

UNIVERSITÉ DE PARIS

Série U - N° 84

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1943-1944

Étude sur le dosage
des alcaloïdes par précipitation silicotungstique

THÈSE

POUR L'OBTENTION

DU DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 1944

PAR

Geneviève MAILLARD

PHARMACIEN

Ex-Interne des Hôpitaux de Paris

Ex-Chef de Laboratoire à l'Hôpital Saint-Antoine

Jury { MM. MASCRÉ, Président,
JANOT, Professeur.
PARIS, Maître de Conférences.

IMPRIMERIE
DE L'ARGUS
9, à 17 rue St-Antoine
SOISSONS (Aisne)

UNIVERSITÉ DE PARIS

Série U - N° 84

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1943-1944

Étude sur le dosage
des alcaloïdes par précipitation silicotungstique

THÈSE

POUR L'OBTENTION

DU DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 1944

PAR

Geneviève MAILLARD

PHARMACIEN

Ex-Interne des Hôpitaux de Paris

Ex-Chef de Laboratoire à l'Hôpital Saint-Antoine

Jury { MM. MASCRÉ, Président,
JANOT, Professeur.
PARIS, Maître de Conférences.

IMPRIMERIE
DE L'ARGUS
9, à 17 rue St-Antoine
SOISSONS (Aisne)

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Administration

MM. DAMIENS, Doyen, O. ✱, I.
SOMMELET, Assesseur, ✱, I.
H.J. LIONNET, Secrétaire, I.

Professeurs

MM. DAMIENS, O. ✱, I	Chimie minérale.
SOMMELET, ✱, I	Chimie organique.
FABRE, ✱, I	Toxicologie.
DELABY, ✱, I	Pharmacie chimique.
PICON, ✱, I	Physique.
MASCRE, ✱, I	Histoire naturelle des Médicament simples d'origine végétale.
BACH, ✱, I	Botanique générale.
FLEURY, ✱, I	Chimie biologique.
RÉGNIER, ✱, I	Microbiologie.
JANOT, ✱, A	Pharmacie galénique.
CHARONNAT, ✱, I	Chimie analytique.
VALETTE, ✱, A	Zoologie appliquée.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✱, I. — GUÉRIN, O. ✱, I.
Professeurs honoraires : MM. DELÉPINE, O. ✱, I. et LEBEAU, O. ✱, I.

Membres de l'Institut

MM. PERROT, C. ✱, I. ; COUTIÈRE, O. ✱, I.
BOUGAULT, O. ✱, I. ; LUTZ, ✱, I.
GORIS, O. ✱, I. ; HÉRISSEY, O. ✱, I.
LAUNOY, O. ✱, I.

Maîtres de conférences

MM. BEDEL, ✱, I	Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceutiques.
GUILLOT	Sciences physiques et chimiques.
PARIS	Histoire naturelle.
N	Sciences naturelles.
N	Hydrologie et Hygiène.
N	Cryptogamie et technique microbiologique. Pharmacodynamie.

Chefs des travaux pratiques

MM. DOMANGE, ✱, A., trav. pratiques de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, ✱, A., trav. prat. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
CORRIEZ, ✱, A.	Physique.
DAVID, ✱, I.	Microbiologie.
COURTOIS	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.
CRÉTÉ	Micrographie.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, ✱, A.

..Bibliothécaire : Mlle LAVAUD, ✱, A.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR MASCRÉ
Chevalier de la Légion d'Honneur
Pharmacien des Hôpitaux

*En témoignage de respectueuse et
d'affectueuse gratitude.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M.-M. JANOT

Respectueux hommage.

A MONSIEUR R. PARIS

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie

*Témoignage de reconnaissance et de
sincère attachement.*

A MON PERE ET A MA MERE

A MA SŒUR

A MES PARENTS ET A MES AMIS

INTRODUCTION

Nous nous sommes proposée d'abord, dans ce travail de rassembler les résultats obtenus par les divers auteurs qui ont utilisé la méthode de précipitation silicotungstique de G. BERTRAND pour le dosage des alcaloïdes.

Dans la première partie, à la lumière des divers travaux et de quelques expériences personnelles, nous plaçant surtout au point de vue pratique, nous avons discuté les conditions dans lesquelles ce dosage doit être opéré. Nous avons comparé la méthode type de G. BERTRAND aux méthodes colorimétriques, en particulier à celle de ROJAHN et SEIFERT et surtout à celle de MASCRÉ et LOISEAU.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons appliqué comparativement les méthodes colorimétriques et gravimétriques. Nous avons comparé ces mêmes méthodes à des méthodes différentes pour un certain nombre de drogues et de préparations galéniques :

C'est Monsieur le Professeur MASCRÉ qui nous a inspiré le sujet de ce travail. Nous avons été son interne, puis son chef de laboratoire. C'est dans son laboratoire et sous sa direction pleine de bonté qu'ont été effectuées toutes nos expériences. Il n'a cessé de nous suivre dans nos efforts, de nous aider de ses conseils et de nous apporter l'appui de sa grande érudition.

Nous le prions respectueusement de croire en notre affectueuse reconnaissance et en notre profond attachement.

Nous remercions également Monsieur le Professeur JANOT de s'être intéressé à ce travail et d'avoir bien voulu accepter de faire partie du jury de notre thèse.

Nous remercions aussi Monsieur PARIS, Maître de conférences, qui, ne ménageant jamais son temps, nous a si souvent fait profiter de sa grande expérience. Depuis que nous avons suivi ses conférences d'internat, il a été pour nous l'ainé bienveillant auprès duquel nous avons trouvé toujours un accueil aussi cordial que compétent.

Nous ne saurions oublier l'aide précieuse et bienveillante que nous avons trouvé en M. le docteur R. WEITZ, assistant à la chaire de Matière médicale. Nous avons du reste déjà apprécié sa grande complaisance toutes les fois que durant la guerre, alors que nous le suppléions dans ses fonctions d'assistant, nous avons eu recours à ses conseils et à l'ampleur de ses connaissances.

Nous n'oublions pas notre excellent camarade Jean LOISEAU, à côté de qui nous avons travaillé pendant plusieurs années et qui a occasionnellement collaboré avec nous dans nos recherches.

Cette thèse est la conclusion de plusieurs années passées dans les Hôpitaux. Il nous est agréable d'adresser ici un souvenir amical à tous les camarades rencontrés au cours de ces années.

HISTORIQUE

L'acide silicotungstique a été utilisé depuis longtemps, soit pour purifier, soit pour doser certains alcaloïdes :

En 1876, GODEFFROY [15] signale l'insolubilité des sels d'alcaloïdes et la faible solubilité des sels de rubidium, et de coesium.

En 1899, G. BERTRAND publie son travail sur l'emploi de l'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes [4]. C'est le travail fondamental. Il a servi de point de départ et nous exposons dès maintenant, avec détails, la technique suivie par cet auteur.

G. BERTRAND emploie l'acide silicotungstique lui-même ou son sel de sodium en solution à 5 % ; il opère à froid ou à chaud, selon les cas. Par précipitation à chaud, il obtient des précipités plus visibles et moins hydratés que par précipitation à froid. Après refroidissement, s'il y a lieu, le silicotungstate est recueilli sur filtre, lavé « à fond », séché à l'étude et calciné. Par calcination, les silicotungstates laissent un résidu absolument fixe, jaune ou légèrement verdâtre formé de SiO_2 et WO_3 en proportions nettement définies. La calcination est indispensable, car le silicotungstate retient des proportions variables d'eau qui ne se dégagent pas toujours en totalité, même à 120° . Le résidu de calcination correspond au contraire à une formule donnée qui, s'il y a combinaison exacte de l'acide silicotungstique et des alcaloïdes, peut permettre le dosage de ceux-ci.

G. BERTRAND a analysé les silicotungstates isolés. D'une part, il détermine leur teneur en azote, d'autre part il les calcine. Le rapport entre ces deux résultats lui permet d'établir les proportions d'alcaloïdes et d'acide silicotungstique combinés et il admet la formule générale suivante : $\text{SiO}_2, 12 \text{WO}_3, 4 \text{alc.}, n \text{OH}_2$.

A la suite de ce travail, l'emploi de l'acide silicotungstique qui était jusque-là limité à la recherche des alcaloïdes a pu être étendu à leur dosage. Le principe a été repris par un grand nombre d'auteurs qui ont précisé les conditions opératoires les plus favorables dans chaque cas particulier.

En 1901, le premier après G. BERTRAND, ECALLE [12] effectue des essais de dosage de l'aconitine par précipitation silicotungstique.

En 1902, YVON [52] prépare le silicotungstate de quinine. —

En 1903, GUILLEMARD [20] utilise l'acide silicotungstique pour la détermination des bases dans l'urine.

En 1903 également, BLANCHER [6] établit une méthode de séparation de la strychnine et de la brucine et étudie à ce propos le silicotungstate de brucine.

En 1909, BERTRAND et JAVILLIER [5] préparent le silicotungstate de nicotine.

En 1910, JAVILLIER [24] prépare les silicotungstates de conicine, spartéine et atropine. Le premier, il applique cette méthode à la pharmacie galénique en utilisant l'acide silicotungstique pour doser les alcaloïdes dans un extrait de Belladone.

En 1910, RIBAUT [42] veut vérifier les données d'ECALLE et étudie les conditions de précipitation de l'aconitine.

En 1911, CHAPIN [8] donne une méthode de détermination de la nicotine dans les extraits de Tabac en faisant appel à l'acide silicotungstique.

En 1911, JAVILLIER et GUERITHAULT [25 bis] dosent la quinine par l'acide silicotungstique.

En 1912, LEFEBVRE [31] fait une revue des réactifs généraux des alcaloïdes.

En 1912, JAVILLIER [25 ter] signale la précipitation par l'acide silicotungstique de bases non alcaloïdiques, urotropine, antipyrine, pyramidon, lysidine, pipérazine.

En 1912, PLOYART [41 bis] étudie le dosage des alcaloïdes dans les préparations officinales de Quinquina.

En 1913, AZADIAN [1], se basant sur la formule de BERTRAND, effectue le dosage des alcaloïdes dans les préparations de Noix vomique.

En 1913, JENSEN [26] prépare le silicotungstate de colchicine et dose les alcaloïdes des préparations d'Aconit, Ipéca et Jaborandi.

En 1914, TANRET fils [47] prépare le silicotungstate de galéguine.

La même année, FERENCZ et DAVID [14] purifient plusieurs alcaloïdes par passage à l'état de silicotungstates.

En 1917, BAGGESGAARD RASMUSSEN [2] donne un procédé de dosage des alcaloïdes de la Belladone.

En 1919, TAIGNER [46] établit que les silicotungstates d'atropine, strychnine, cocaïne, séchés à 120°, possèdent tous une formule analogue à celle proposée par G. BERTRAND.

En 1920, HEIDUSCHKA et WOLF [21] dosent de petites quantités d'alcaloïdes et comparent les combinaisons obtenues aux combinaisons théoriques calculées selon la formule de BERTRAND. Ils ont étudié à ce point de vue : quinine, cinchonine, papavérine, narcotine, caféine, spartéine, nicotine, morphine, codéine, vératrine, aconitine, thébaïne,

atropine, cocaïne, strychnine, brucine, colchicine. Les auteurs signalent une méthode de dosage volumétrique basée, également, sur l'emploi de l'acide silicotungstique.

En 1924, MACH et SINDLINGER [35] décrivent le dosage de la nicotine.

En 1924 également, DUJARDIN [11] considère à nouveau le problème du dosage de la strychnine et de la brucine.

En 1924 encore, GORIS et MÉTIN [17] étudient les variations de la teneur en alcaloïdes des racines d'Aconit.

GORIS et LIOT [18] apprécient la valeur thérapeutique de l'extrait d'ergot de seigle.

La même année, NORTH et BEAL [39] font une revue de la question dans laquelle ils discutent la formule de BERTRAND pour un certain nombre d'alcaloïdes. A leur tour, ils préconisent l'emploi d'une méthode volumétrique et discutent la nature de l'indicateur de fin de réaction à utiliser.

En 1927, A. GUILLAUME [19] prépare les silicotungstates de pilocarpine, pelletièreine et pseudo-pelletièreine.

En 1928, DUBREUIL [10 bis], dose les alcaloïdes dans les écorces de Quinquina.

En 1928, STUBER et KLJATSCHKINA [45] étudient le silicotungstate de strychnine.

En 1929, KLJATSCHKINA et STRUGADSKI [29] continuent le travail précédent et étudient en particulier le comportement du silicotungstate de brucine.

En 1929, HIRT [21 bis] étudie les préparations galéniques à base de Genêt.

En 1929, Mme MALMANCHE [33] étudie les préparations d'Aconit au moyen de l'acide silicotungstique.

En 1930, MASCRÉ [36] dose les alcaloïdes de la Lobélie à l'état de silicotungstate.

En 1930 également, ROJAHN et SEIFERT [43] introduisent une nouvelle technique de dosage colorimétrique et appliquent leur méthode à la strychnine, à la quinine, à l'émétine et à la cinchonine.

En 1931, POLONOVSKI et CAPPELAERE font les silicotungstates et les iodomercurates de gènalcaloïdes et utilisent pour ces silicotungstates la formule de BERTRAND.

En 1931, KRAUSS [30] dose la strychnine dans les blés empoisonnés et, à ce propos, discute le coefficient admis.

En 1931, KAHANE et Mme KAHANE [27] appliquent la méthode de précipitation silicotungstique au dosage de la choline et de l'acétylcholine. Ils envisagent aussi l'application au dosage d'un mélange strychnine-brucine ou d'un mélange atropine-tropine.

En 1931, VALETTE [48] dose la cocaïne à l'état de silicotungstate.

En 1931 encore, LEROY [32] applique la précipitation par l'acide silicotungstique à l'urine.

En 1932, JANOT et FAUDEMAY [22] préparent le silicotungstate d'hordénine cristallisé.

En 1932 également, JANOT et Mlle BERNIER [23] obtiennent le silico-tungstate des divers alcaloïdes du Peyotl.

En 1933, VALETTE [49] caractérise et dose la novocaïne à l'état de silicotungstate.

En 1934, GIRAULT [15 bis] dose par l'acide silicotungstique la novocaïne et la quinine.

En 1935, BERREDO CARNEIRO [3] étudie les alcaloïdes du curare.

En 1936, MONNET [37 bis] rappelle les essais antérieurs concernant le dosage des alcaloïdes du quinquina et prépare les silicotungstates de quinidine, cinchonine et cinchonidine.

En 1941, MASCRÉ et LOISEAU [37] mettent au point une technique de dosage colorimétrique déterminant l'excès de l'acide silicostungs-tique dans le liquide de précipitation.

En 1942, R. PARIS [40 bis] prépare le silicotungstate de conessine.

En 1943, MONTANT [38 bis] applique la précipitation dans les conditions habituelles aux alc. totaux du *Veratrum album*. Il admet sans vérification la formule de BERTRAND.

Cet exposé chronologique fait ressortir immédiatement que de nombreux auteurs se sont intéressés aux mêmes silicotungstates.

Dans tous les cas le principe du dosage est le même, mais quand on examine les travaux de près, on constate que l'accord n'est pas absolu quant aux formules à adopter. Si, pour l'atropine et la pilocarpine par exemple, les auteurs, qui se sont occupés de la question, semblent d'accord, pour attribuer au silicotungstate la formule de BERTRAND, dans beaucoup d'autres cas les avis divergent. Pour la strychnine par exemple, BERTRAND, NORTH et BEAL et WOLF, font combiner à une molécule d'acide 4 molécules d'alcaloïde, alors que STUBER n'en fait combiner que 3,5. De même pour l'aconitine, WOLF admet encore 4 molécules, alors qu'ECALLE n'en admet que 3,5.

PREMIERE PARTIE

ETUDE CRITIQUE
DES DIVERS PROCÉDÉS ANALYTIQUES

ETUDE CRITIQUE DES PROCEDES GRAVIMETRIQUES

A) L'acide silicotungstique employé.

On a décrit plusieurs acides silicotungstiques. L'acide utilisé dans toutes les expériences rapportées et dans celles que nous avons nous-même effectuées, est l'acide de formule $\text{SiO}_2, 12 \text{ WO}_3, n \text{ OH}_2$, dont la préparation a été donnée par MÉRIGNAC, puis par WYROUBOFF, enfin par COPAUX. C'est la préparation donnée par cet auteur (qui semble avoir été le premier à décrire un mode de préparation détaillé de cet acide en 1908) que nous rapportons ci-après. COPAUX ne s'occupe que de la forme A ; il existe en effet une forme isomère B, ainsi qu'une forme C, celle-ci de formule différente.

Formules des trois acides (COPAUX) :

A — $\text{SiO}_2, 12 \text{ WO}_3, 2 \text{ OH}_2, 31 \text{ Aq.}$

B — $\text{SiO}_2, 12 \text{ WO}_3, 2 \text{ OH}_2, 22 \text{ Aq.}$

C — $\text{SiO}_2, 10 \text{ WO}_3, 2 \text{ OH}_2, 3 \text{ Aq.}$

On prépare de la silice gélatineuse en ajoutant de l'acide nitrique fort à une solution commerciale et légèrement diluée de silicate de sodium jusqu'à réaction acide au tournesol. D'autre part, on dissout un certain poids de tungstate de sodium neutre, cristallisé, dans cinq fois son poids d'eau et acidule avec précaution par l'acide nitrique à froid jusqu'à ce que le précipité formé d'alcool ne se dissolve plus que lentement. A ce liquide, on ajoute la silice délayée dans son eau-mère et porte le tout au B-M. A mesure que la température s'élève, l'acide tungstique subit une condensation moléculaire, libère une partie de l'alcali qu'il saturait primitivement et, si le liquide n'avait au début qu'une acidité légère, il prend une réaction nettement alcaline. Il faut alors rétablir l'acidité par addition ménagée d'acide nitrique et prélever de temps en temps une portion du liquide pour voir si celui-ci précipite encore par addition d'acide chlorhydrique.

comme le fait la solution d'un tungstate ou d'un para-tungstate. Au bout d'une demi-heure ou de trois quarts d'heure, la liqueur n'est plus précipitable ; la combinaison de silice et d'acide tungstique est achevée. On filtre pour éliminer l'excès de silice. Il reste à extraire, des eaux filtrées, l'acide silicotungstique qu'elles renferment. Pour cela, la solution nitrique est refroidie et placée dans une ampoule à décantation, puis additionnée d'éther et d'acide sulfurique au 1/3 jusqu'à ce qu'elle se trouble par agitation et se scinde en trois couches : la couche inférieure est une combinaison d'éther et d'acide silicotungstique. Lorsqu'elle est éclaircie par le repos, on l'introduit dans un ballon et on y fait passer un courant de vapeur d'eau. L'éther est éliminé par entraînement et il reste une solution concentrée d'acide silicotungstique.

PROPRIETES. — L'acide silicotungstique ainsi obtenu s'écrit d'une façon classique selon la formule utilisée par BERTRAND, à la suite de WYROUBOFF :



D'autres auteurs, tels que KAHANE, préfèrent mettre en évidence la dérivation de cet acide à partir de l'acide ortho-silicique et l'écrire :



Quoi qu'il en soit, cet acide donne avec les alcaloïdes et avec certaines bases organiques du type de la choline et de ses dérivés, ou du type de la guanidine et de ses dérivés, des précipités caractéristiques, ainsi qu'avec la plupart des bases tertiaires.

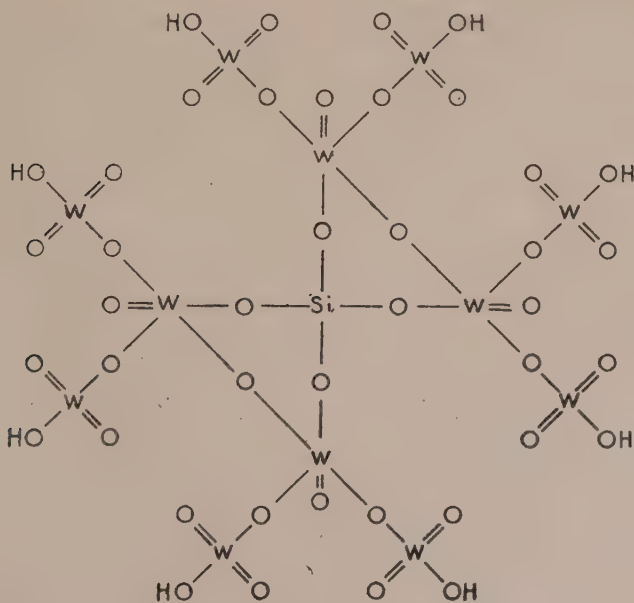
Le degré de basicité de l'acide silicotungstique a d'ailleurs été discuté. D'après MARIGNAC [34], l'acide silicotungstique est octobasique. Le titrage en présence de méthyl-orange a son point final pour 4 équivalents. En solution chaude, avec la phénolphtaléine comme indicateur, la neutralisation correspond à 36 hydrogènes. D'après COPAUX [9], il y a en présence de phénolphtaléine un terme net quoique non permanent, pour 4 hydrogènes, ce qui est contraire aux résultats obtenus par NORTH et BEAL [39].

D'après la formation des sels normaux de potassium et d'ammonium, il y a dans l'acide 8 hydrogènes remplaçables, mais avec les bases organiques tertiaires, la neutralisation correspond à 4 hydrogènes seulement. Les formules empiriques obtenues par l'analyse de ces sels, cependant, ne supportent pas l'octobasicité de l'acide. Dans le mode de formation usuel de ces composés, il y a addition directe

des ions de l'acide à l'azote de la base. Une telle addition signifierait que, pour obtenir l'anhydride par chauffage de l'acide ou du sel alcaloïdique, il y aurait élimination du même nombre de molécules d'eau. Des expériences montrent qu'il y a élimination seulement de moitié d'eau dans le cas du sel d'alcaloïde, par rapport à l'acide, pour obtenir le même anhydride.

Les sels métalliques neutres ont été obtenus par addition d'un excès d'alcali à l'acide. Les sels d'alcaloïdes ont été précipités en solutions rendues acides par un acide minéral fort. Il apparaît ainsi qu'il y a une condition d'équilibre dans la solution acide où existeraient à la fois des acides ortho et tétrabasiques. La présence d'un acide fort peut provoquer la régression de l'ionisation de 4 H, permettant en même temps une « déshydratation » avec formation d'un anhydride partiel. Les conditions sont exactement les mêmes que dans le cas de l'équilibre entre les acides chromique et dichromique, ou entre un dichromate et un véritable chromate acide en solution.

Le sel octopotassique préparé par NORTH et BEAL [39] est acide à la phénolphthaléine, neutre au tournesol, alcalin au méthylorange et au rouge de méthyle. La formule de structure suivante est proposée pour l'acide silico-duodécitungstique, montrant celui-ci comme un dérivé de l'acide orthosilicique :



On pourrait penser que dans un acide de ce type, 4 hydrogènes auraient pratiquement une valeur égale et seraient remplacés simultanément par une base dans la neutralisation de l'acide. L'ionisation des 4 H restants serait moins marquée. COPAUX considère les OH restants comme des OH alcooliques. Cependant, les sels métalliques neutres sont obtenus par remplacement de 8 H par la base, et un titrage par une base en présence de phénolphthaléine montre un point final graduel qui suggérerait une formule de ce type.

Toutes ces considérations relèvent de la chimie des complexes, et, pour nous qui n'avons en vue que le côté pratique de l'utilisation de l'acide silicotungstique au cours du dosage des alcaloïdes, nous nous en tiendrons à la formule qui a fait ses preuves depuis longtemps déjà, et nous nous bornerons à l'étude de l'établissement du coefficient qui régit les rapports entre la quantité d'acide silicotungstique et celle d'alcaloïdes susceptible de lui être combinée.

L'acide silicotungstique que nous utilisons est l'acide commercial R.P. Il est constitué par des cristaux déliquescents, incolores ou à peine jaunâtres, complètement et rapidement solubles dans l'eau, l'éther, l'alcool éthylique, l'acétone, l'acétate d'éthyle et l'acétate d'amyle. Les solutions sont stables.

B) La précipitation.

Une technique de dosage reposant sur l'isolement d'un précipité ne peut être concevable que si l'insolubilité du précipité est, sinon absolue, du moins très grande. La limite de sensibilité donne une idée sur la précipitation plus ou moins incomplète. La sensibilité est d'autant plus grande que l'insolubilité est plus élevée.

Comment s'assure-t-on que la précipitation est complète ? Par addition au filtrat d'une nouvelle quantité de réactif, qui ne doit provoquer aucune précipitation. A ce moment, une fraction plus ou moins grande d'alcaloïde peut cependant rester dans le liquide de précipitation, si la solubilité du sel d'alcaloïde est suffisante. C'est là un fait important qui doit intervenir dans l'établissement des formules de dosage.

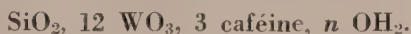
La totalité *pratique* de la précipitation et, par suite, la sensibilité des dosages, ne dépend pas seulement de la nature des alcaloïdes mais aussi d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont :

- 1° La réaction du milieu ;
- 2° La température ;

3° Les rapports des quantités en présence d'alcaloïdes et de réactif précipitant.

1° Réaction du milieu.

Les premiers essais de G. BERTRAND ont été faits en milieu neutre. On a remarqué ensuite que si la précipitation était faite en milieu acide, on obtenait un précipité d'allure différente et plus facile à séparer. Mais on peut se demander si l'acidification du milieu, favorable à la formation d'un précipité cohérent, n'influe pas sur la composition de ce précipité. G. BERTRAND prépare les silicotungstates de pyridine, de morphine et de strychnine en milieu neutre, mais il note que dans le cas de la caféine et de la théobromine, la précipitation n'acquiert toute sa sensibilité qu'en présence d'une assez forte proportion d'acide libre (jusqu'à 3 ou 4 %). Dans ces conditions, BERTRAND admet pour la caféine un silicotungstaté de formule :



HEIDUSCHKA et WOLF [21], en 1920, font remarquer que la caféine précipite incomplètement en présence de 1 % ClH alors qu'en présence de 3 % la précipitation est complète et correspond à un précipité à 3 molécules d'alcaloïde déjà trouvé par BERTRAND.

En 1910, RIBAUT [42] veut vérifier les données d'ECALLE et précipite l'aconitine en faisant varier la concentration du milieu en acide nitrique libre. La combinaison acide silicotungstique-aconitine retient l'autant plus d'acide silicotungstique que le liquide de précipitation est plus chargé en acide nitrique. Pour une même concentration en acide silicotungstique :

- à 1,15 % en NO_3H correspond un coefficient de transformation de 0,838 ;
- à 2,3 % en NO_3H correspond un coefficient de 0,795 ;
- à 4,6 % en NO_3H correspond un coefficient de 0,769.

A propos de la strychnine, HEIDUSCHKA et WOLF [21] signalent que G. BERTRAND donnait pour le silicotungstate une formule 1/4 et que les précipités obtenus par eux avec les quantités calculées d'acide silicotungstique ne filtraient pas après 24 heures de repos. Ils ont pu les séparer à l'aide de filtres colloïdaux spéciaux, mais, même en ce cas, le précipité montrait une différence nette, quoique peu prononcée, avec celui de BERTRAND.

Pour la colchicine, JENSEN [26] donne la formule $1/5$, mais HEIDUSCHKA et WOLF [21] n'ont pu obtenir cette composition ; les silicotungstates formés par eux avaient moins de 4 molécules de colchicine pour une d'acide. En présence de 3 à 4 % de ClH, la composition, comme pour la strychnine, s'approche de $1/3$.

A propos de la lobéline, MASCRÉ [36] cherche le « titre acide optimum ». Il constate que les différences observées sont assez faibles, mais que les variations se font toujours dans le même sens. Il y aura lieu d'opérer la précipitation dans une solution de ClH correspondant à ClH Normal.

VALETTE [48] en précipitant, en 1931, la cocaïne à l'état de silicotungstate, donne, quant à l'acidité, les conclusions suivantes : l'acidité optimum de précipitation correspond à une solution de ClH $N/3$, bien qu'entre ClH $N/5$ les différences entre les résultats obtenus soient très faibles.

Notons enfin qu'en 1932, JANOT et FAUDEMAY [22], à propos du silicotungstate d'hordénine, signalent que la précipitation se fait en milieu non acidifié.

Dans d'autres cas, pour obtenir un précipité plus cohérent, au lieu d'effectuer la précipitation en présence d'un acide, on l'a effectuée en présence d'un sel : Cl Na. La présence du sel semble influencer sur la composition du précipité

Voici quelques exemple :

Toujours d'après HEIDUSCHKA et WOLF [21], la morphine, en présence de 13 % de Cl Na, consomme exactement deux fois plus d'acide silicotungstique qu'en présence de ClH. Il entre alors en réaction deux molécules de morphine pour une d'acide silicotungstique. D'après les mêmes auteurs, la teneur du précipité en acide silicotungstique est toujours supérieure à $1/4$ pour les alcaloïdes suivants : strychnine, brucine, narcotine, papavérine, colchicine, vératrine, aconitine. Elle est d'autant plus grande que la concentration en ClH ou Cl Na est plus élevée. La formule du précipité tend vers SiO_2 , 12 WO_3 , 4 alc. , $n \text{ OH}_2$, quand les solutions ne sont additionnées que de faibles quantités d'électrolytes. Comme cette concentration ne peut descendre au-dessous d'une certaine limite, parce que le précipité ne filtrerait pas, on ne peut utiliser la formule habituelle. Les auteurs ont cependant réussi, en employant une membrane filtrante de HAEN à établir qu'en solution dans l'alcool dilué, sans addition d'électrolyte, les précipités de strychnine, brucine, vératrine, aconi-

tine, par l'acide silicotungstique correspondent exactement à la formule générale. Manifestement pour les alcaloïdes suivants : morphine, codéine, thébaïne, atropine, cocaïne, il s'établit, dans leurs combinaisons avec l'acide silicotungstique, un équilibre entre sels normaux et sels acides, qui, suivant la concentration en acide ajouté, peut se déplacer dans un sens ou dans l'autre. Par exemple si, en présence de 1 % de ClNa , on précipite l'alcaloïde par une quantité d'acide silicotungstique telle que le filtrat ne précipite plus ni par la solution alcaloïdique ni par la solution acide et, si on lave le précipité avec une solution de plus en plus concentrée en ClH , dans le filtrat on peut mettre l'alcaloïde en évidence. Si, au contraire, on lave avec de l'acide moins concentré, on trouve de l'acide silicotungstique libre dans le filtrat. Si le lavage est fait avec de l'acide très dilué, on obtient finalement des combinaisons qui se rapprochent beaucoup des formules générales.

EN RESUMÉ ; Si la concentration en acide ou en sel neutre influe sur les caractères physiques du précipité, elle influe aussi sur sa solubilité et peut influencer sur sa composition. Il y aura donc lieu, dans chaque cas, de vérifier quelles sont les conditions les meilleures à ce point de vue, pour obtenir la précipitation complète de l'alcaloïde, la séparation facile du précipité et établir le coefficient expérimental de dosage, dont nous parlerons plus loin, dans des conditions rigoureuses.

2° La température.

Comme la réaction du milieu, la température va influencer sur les propriétés physiques, c'est-à-dire sur la consistance du précipité. Elle influe évidemment aussi sur la solubilité ; mais il n'y a pas à en tenir compte puisqu'on recueille le précipité après refroidissement des liqueurs ; mais surtout, il faudra tenir compte de l'altération possible des alcaloïdes sous l'influence de l'élévation de la température. Nous verrons qu'il y a des cas où, à cause de l'altérabilité des alcaloïdes, il est impossible d'opérer à chaud.

Dans toutes les techniques proposées, les conditions opératoires précisent les températures de précipitation, marquant les conséquences soit au point de vue de la solubilité, soit au point de vue de l'altération des alcaloïdes.

G. BERTRAND opère généralement à froid, mais il spécifie qu'à chaud on obtient un hydrate moins hydraté et plus visible, préférable quand on se propose une recherche qualitative.

JAVILLIER [24], en 1910, opère la précipitation de l'atropine soit à froid, soit à une température voisine de l'ébullition, ce qui donne un précipité plus dense. Il signale toutefois qu'il faut éviter de prolonger l'ébullition, ce qui amènerait une saponification de la base.

En 1924, DUJARDIN [11] fait opérer la précipitation de la strychnine et de la brucine par addition, à début d'ébullition, d'un excès d'acide silicotungstique à 5 %. Il laisse 3/4 d'heure au B.-M. et décante.

STUBER et KLJATSCHKINA [45], en 1928, opèrent la précipitation de la strychnine au B.-M. pendant 15 à 20 minutes, puis abandonnent au repos durant 15 à 18 heures.

KLJATSCHKINA et STRUGADSKI [29], à propos du silicotungstate de brucine, disent que si l'on porte à l'ébullition après avoir précipité à la température du laboratoire, la composition du précipité se modifie ; une partie de l'acide silicotungstique passe en solution et le précipité devient plus basique.

MASCRÉ [36] précipite la lobéline à froid, en raison de la décomposition particulièrement facile de cet alcaloïde. Il a cherché à déterminer la « température optimum » de précipitation en faisant les additions d'acide silicotungstique, à froid, en chauffant légèrement, sans atteindre l'ébullition, et à commencement d'ébullition. Il constate qu'il y a décomposition particlle évidente des alcaloïdes dès que les solutions sont soumises, si peu que ce soit, à l'action de la chaleur. L'écart observé varie de 5,8 à 7 % quand on compare les résultats obtenus à froid et les résultats obtenus en portant les liqueurs à début d'ébullition. Il faut donc précipiter à froid les alcaloïdes de la Lobélie.

Pour la cocaïne, VALETTE [48] fait les mêmes observations et opère la précipitation de la cocaïne à froid, la cocaïne étant décomposée par la chaleur.

Quand à l'hordénine, JANOT et FAUDEMAY [22] obtiennent, en opérant à froid ou à chaud, des résultats identiques.

Ces exemples montrent combien est grande l'influence de la température soit au moment de la précipitation, soit après celle-ci. Non seulement la température peut influencer plus ou moins favorablement sur la ténuité du précipité, mais aussi elle peut modifier la constitution chimique elle-même de ce précipité et par suite en modifier la formule.

3° Rapports quantitatifs des alcaloïdes et du réactif précipitant

Plusieurs études ont mis en lumière l'influence des quantités réciproques d'acide silicotungstique et d'alcaloïdes à précipiter. Dès 1910, JAVILLIER [24] signale que la précipitation des alcaloïdes de la Belladone doit être effectuée en évitant un excès notable d'acide silicotungstique.

La même année, RIBAUT²[42] étudie, à propos du dosage de l'aconitine, l'influence de la concentration en acide silicotungstique libre. Nous avons vu, à propos de l'influence de l'acidité du milieu, qu'il avait fait varier les concentrations en acide nitrique. Il se place dans les conditions du Codex, c'est-à-dire 2,3 % d'acide nitrique libre et fait varier les quantités d'acide silicotungstique. Pour 0,3 % d'acide silicotungstique, le coefficient trouvé est de 0,804 ;

pour 0,5 % le coefficient est de 0,795 ;

pour 0,7 % il est de 0,785 ;

pour 1 % il est de 0,775.

Tenant compte à la fois des variations de l'acidité et des quantités d'acide silicotungstique, RIBAUT arrive aux conclusions suivantes :

1) La composition de la combinaison acide silicotungstique-aconitine dépend de celle du milieu ; et elle contient d'autant plus d'acide silicotungstique que le liquide est plus chargé, soit en acide nitrique, soit en acide silicotungstique.

2) Le silicotungstate d'aconitine est d'autant plus soluble que le liquide contient plus d'acide nitrique ou d'acide silicotungstique, ce dernier ayant cependant à cet égard une influence beaucoup plus faible que le premier.

3) Dans les conditions où le Codex prescrit d'opérer, c'est-à-dire en présence de 2,3 % d'acide nitrique libre et 0,5 % d'acide silicotungstique, le coefficient d'ECALLE 0,793 donne des résultats satisfaisants.

En 1929, KLJATSCHKINA et STRUGADSKI [29], en étudiant le silicotungstate de brucine, notent l'influence du degré d'acidité, ce que nous avons vu plus haut, et l'influence de l'excès de réactif. Pour cela, ils opèrent (en présence de 1 % d'acide chlorhydrique libre), à la température du laboratoire et ne font varier que les quantités d'acide précipitant. Ils constatent que 3,5 molécules d'alcaloïde s'unissent à 1 molécule d'acide, si on utilise les quantités juste suffisantes d'acide silicotungstique. En utilisant le double de ce dernier, c'est seulement

3 molécules d'alcaloïde qui s'unissent à 1 molécule d'acide, et ainsi de suite. L'excès d'acide silicotungstique du précipité ne peut être éliminé qu'en partie par des lavages avec ClH à 1 %. Par lavage à l'eau, le précipité passe à travers le filtre à l'état colloïdal.

Pour déterminer la quantité suffisante, les auteurs opèrent comme suit : ils divisent une partie de la solution à analyser dans une série de vases à précipiter, ils y versent des quantités croissantes de réactif, séparent par filtration. Chacun des filtrats est additionné séparément de brucine et d'acide silicotungstique. Dans le vase où le filtrat ne précipite ni par la brucine, ni par l'acide silicotungstique, on a utilisé la quantité exacte de réactif précipitant nécessaire. Dans ces conditions, acidité déterminée, acide silicotungstique Q. S., température connue, les auteurs obtiennent une composition constante du précipité.

C) Le lavage du précipité.

La précipitation terminée, il reste à laisser reposer le précipité et à le recueillir, après l'avoir lavé pour éliminer l'excès du réactif ayant servi à la précipitation. Pour le lavage, les mêmes questions qui se sont posées au moment de la précipitation, concernant la solubilité et l'altérabilité de la combinaison, se posent à nouveau. Il faut éliminer l'excès d'acide silicotungstique, sans redissoudre le silicotungstate, d'une part, sans le dissocier d'autre part.

Les diverses techniques que nous avons relevées manquent en général de précision à ce sujet. Il semble pourtant que la composition finale du silicotungstate dépende de la qualité du lavage.

G. BERTRAND lave « à fond ».

Dans quelques cas particuliers, il donne plus de précisions. C'est ainsi que pour la caféine, il dit que les lavages doivent être faits avec une solution acide de même concentration que celle au sein de laquelle a eu lieu la précipitation.

En 1905, BLANCHER [6] lave le silicotungstate de brucine par centrifugation et à quatre reprises.

JAVILLIER [24] opère les lavages à l'eau acidulée. A propos du silicotungstate d'atropine, il met en garde contre la possibilité de dissociation : « Il est difficile, dit-il, d'obtenir un silicotungstate qui réponde rigoureusement au chiffre que prévoit la théorie. Lorsqu'on effectue la précipitation par de l'acide silicotungstique en léger excès, qu'on centrifuge pour séparer le précipité et qu'on lave celui-ci à l'eau acidulée, l'eau de lavage précipite longtemps, aussi bien par

addition de quelques gouttes de solution d'atropine que par celle de quelques gouttes de solution d'acide silicotungstique, et le précipité recueilli et analysé renferme un petit excès de silice et d'anhydride tungstique par rapport aux quantités prévues. Peut-être ces faits peuvent-ils s'interpréter par la tendance qu'aurait l'atropine à fournir un silicotungstate acide et par la facile dissociation du silicotungstate d'atropine ». L'auteur tourne la difficulté en « précipitant en milieu légèrement acide une quantité connue d'atropine par une quantité d'acide silicotungstique légèrement inférieure à celle qui était nécessaire pour précipiter tout l'alcaloïde et en lavant avec une quantité d'eau limitée jusqu'à ce que l'eau de lavage ne précipite plus par l'acide silicotungstique ».

HEIDUSCHKA et WOLF [21] font remarquer que de l'acidité de l'eau de lavage dépend la composition du précipité. Ils étudient en particulier le cas de la strychnine et constatent qu'au moyen de lavages à l'eau acidulée très diluée, on obtient des précipités se rapprochant de la formule de BERTRAND. Ils notent, au passage, que ces différences de composition ne sont pas retrouvées avec la quinine ni avec la cocaïne.

STUBER [45] lave à l'eau acidulée jusqu'à élimination de l'acide silicotungstique (élimination qu'il contrôle) et nous verrons, au moment où nous étudierons le calcul, combien est important ce point : vérification de la fin du lavage, fin qui n'est obtenue d'ailleurs qu'après le passage d'une assez forte quantité de liquide. Le manque de précision laisse les difficultés sans solution et nous verrons à propos du calcul que les variations observées dans la désignation du coefficient de transformation à utiliser sont peut-être fonction, précisément, de la solubilité du silicotungstate, dont une proportion plus ou moins élevée sera dissoute suivant la manière dont sont conduits les lavages.

D) La calcination.

Le dernier temps, enfin, du dosage par précipitation est la calcination du silicotungstate, calcination rendue indispensable en raison de la proportion variable d'eau retenue par le précipité, eau qu'une dessiccation à 120° ne suffit pas toujours à éliminer complètement. Toutes les techniques prescrivent de calciner le précipité après l'avoir lavé, séché et par toutes, on obtient, comme avec celle de G. BERTRAND, « un résidu absolument fixe, jaune serin ou légèrement verdâtre », formé de SiO_2 et WO_3 .

Cependant, à propos du silicotungstate d'hordénine, JANOT et FAUDEMAY (22) recommandent de ne pas dépasser le rouge sombre ; au rouge blanc le résidu, de jaune, passe au vert.

Dans le cas de la cocaïne, la calcination n'apparaît pas indispensable à VALETTE [48], qui pèse le silicotungstate de cocaïne après l'avoir séché à l'étuve à 120°.

E) LE CALCUL, les résultats.

Après avoir étudié les conditions de précipitation, de lavage, de calcination, nous en arrivons à considérer le résidu qui est pesé. On obtient ainsi un poids S qui représente l'anhydride silicotungstique qui s'est trouvé uni au cours de la précipitation à la quantité d'alcaloïde mise en œuvre, et seulement cet anhydride combiné, les lavages ayant éliminé l'excès de réactif. C'est ce poids S qu'il faut convertir en alcaloïde. Le fait paraît très simple. En réalité, la question est complexe.

En théorie, à un poids S de résidu, correspond un poids A d'alcaloïde et le coefficient se trouve être le rapport $\frac{A}{S}$

En adoptant la formule donnée par BERTRAND, le coefficient de transformation est $\frac{4 M}{S}$ si l'on désigne par M le poids moléculaire de l'alcaloïde.

Soit K ce coefficient. On passera donc facilement du poids S de résidu pesé, au poids A d'alcaloïde mis en œuvre par le calcul :

$$A = K \times S$$

Prenons l'exemple de l'atropine :

Le poids moléculaire est 289. Le coefficient calculé suivant la formule de BERTRAND est donc : $\frac{4 \times 289}{2844} = 0,4064$ (2844 étant le poids moléculaire de l'anhydride silicotungstique). Il suffit donc de multiplier le poids du résidu de calcination du silicotungstate d'atropine par 0.4064 pour trouver le poids d'atropine entré en réaction.

Exemple de la cocaïne :

Le poids moléculaire est 303. Le coefficient calculé suivant la

$$\text{formule de BERTRAND est donc : } \frac{4 \times 303}{2844} = 0,4261.$$

Ces coefficients sont calculés en appliquant la formule de BERTRAND, mais nous avons vu combien, dans la pratique, les différences de température, d'acidité, les lavages plus ou moins prolongés, la nature même du liquide de lavage, influençaient le résidu final, et on comprend pourquoi, dans ces conditions, l'accord est loin d'être fait pour le coefficient de transformation à utiliser.

Il a été constaté, bien souvent, que le coefficient calculé théoriquement ne donne pas toujours entière satisfaction, et qu'il conduit même parfois à des résultats médiocres, alors que l'utilisation d'un chiffre très voisin donne une très bonne approximation.

Ainsi, les observations de GUILLAUME [19] à propos de la pilocarpine et de la pelletierine, les observations de VALETTE [48] à propos de la cocaïne, les observations de JAVILLIER [24] à propos de l'atropine, constituent quelques exemples :

Pilocarpine, coefficient théorique 0,2925, expérimental 0,2933.

Pseudo-pelletiérine, coefficient théorique 0,2151, expérimental 0,2176.

Cocaïne, coefficient théorique 0,325 (rapporté au silicotungstate et non au résidu de calcination), coefficient expérimental 0,325 + 0,001.

Atropine : coefficient théorique 0,4061, auquel il faut ajouter une correction de solubilité de 0,0048 par 100 cc. de liquide de précipitation.

Ces faibles écarts peuvent s'expliquer par le fait que les silicotungstates d'alcaloïdes ne sont pas rigoureusement insolubles dans le milieu de précipitation, et, comme le fait remarquer STUBER [45], le coefficient utilisé ne serait plus le même si l'on envisageait non pas l'alcaloïde à doser, mais bien l'alcaloïde existant dans le précipité.

A côté de ces faibles variations du coefficient K, on relève des variations beaucoup plus notables, portant sur les formules mêmes des silicotungstates. Le premier silicotungstate étudié est celui d'aconitine. Il a été étudié par ECALLE dès 1901 [12].

Le coefficient théorique correspondant à la formule de BERTRAND

$$\text{est } \frac{4 \times 645}{2844} = 0,907. \text{ (Rappelons que 2844 est le poids moléculaire}$$

de l'anhydride silicotungstique).

ECALLE [12] avait constaté que l'application de la formule de BERTRAND donnait des résultats trop élevés. Ils sont exacts au contraire pour un coefficient de 0,793 correspondant à une formule dans laquelle il n'entre que 3,5 molécules d'aconitine pour une d'acide silicotungstique.

En 1910, JAVILLIER [24] cite ECALLE « acceptant sans autre vérification la formule que FREUND attribue à l'aconitine, ECALLE a adopté pour le silicotungstate une formule que l'on ne peut s'empêcher de trouver surprenante, car il y entre pour 1 molécule d'acide 3,5 molécules de base ». Le poids moléculaire de l'aconitine qui figure dans le *Traité de Pharmacie Chimique* de LEBEAU et COURTOIS, (1938), est encore de 645 et c'est celui qu'emploie VALLERY [50] en 1942.

Un autre exemple est celui de la lobéline. MASCRÉ [36], expérimentant sur une lobéline pure, a recherché dans quelles conditions la précipitation était la plus complète. Le coefficient ainsi déterminé expérimentalement a la composition : SiO_2 , 12 WO_3 , 3,5 alc. L'auteur laisse de côté la question théorique et se borne à donner le coefficient dont l'exactitude a été vérifiée par W. PEYER et GSTIRNER [41].

Le même cas s'est produit pour de très nombreux autres alcaloïdes et nous avons rassemblé dans le tableau suivant les différentes formules attribuées par différents auteurs à un certain nombre de silicotungstates d'alcaloïdes :

Aconitine	{	3,5 alc. ECALLE.
	{	moins de 4 alc. WOLF.
Antipyrine		4 alc. JAVILLIER.
Atropine	{	4 alc. JAVILLIER.
	{	4 alc. WOLF.
Apomorphine		4 alc. NORTH et BEAL.
Brucine	{	4 alc. NORTH et BEAL.
	{	moins de 4 alc. WOLF.
Berberine		4 alc. NORTH et BEAL.
Cinchonine		2 alc. WOLF.
Caféine	{	3 alc. BERTRAND.
	{	3 alc. WOLF.
	{	3 alc. BONN et DESGREZ.
	{	4 alc. NORTH et BEAL.
Cinchonine		MONNET.
Cocaïne	{	4 alc. WOLF.
	{	4 alc. VALETTE.
Colchicine	{	moins de 4 alc. WOLF.
	{	4alc. NORTH et BEAL.
	{	5 alc. JENSEN (article original).

Codéine	{	4 alc. WOLF. 4 alc. NORTH et BEAL.
Conessine		2 alc. R. PARIS.
Conicine		4 alc. JAVILLIER (cité par RIBAUT).
Curaléthaline		3 alc. BERREDO CARNEIRO.
Ephédrine		4 alc.
Esérine		4 alc. POLONOVSKI.
Génalcaloïdes.		4 alc. POLONOVSKI.
Galéguine		4 alc. TANRET (1914).
Hordénine		4 alc. JANOT et FAUDEMAY (1932).
Hyosciamine		4 alc. NORTH et BEAL.
Hydrastine		4 alc. NORTH et BEAL (nomenclature).
Lobéline		3,5 alc. MASCRÉ.
Morphine	{	4 alc. BERTRAND. 4 alc. NORTH et BEAL. 4 alc. WOLF. 2 alc. (en présence de ClNa).
Narcéine		4 alc. NORTH et BEAL.
Narcotine	{	4 alc. NORTH et BEAL. moins de 4 alc. WOLF.
Nicotine	{	2 alc. BERTRAND et JAVILLIER. 2 alc. WOLF. 2 alc. NORTH et BEAL.
Novocaïne		4 alc. GIRAULT.
Pelletiérine	{	moins de 4 alc. WOLF.
Pilocarpine	{	4 alc. GUILLAUME. 4 alc. NORTH et BEAL.
Pyramidon		3 alc. JAVILLIER.
Pyridine	{	4 alc. BERTRAND. alc. NORTH et BEAL.
Quinoléine		4 alc. NORTH et BEAL.
Quinine	{	2 alc. NORTH et BEAL. — JAVILLIER et GUERITHAULT. — PLOYART.
Spartéine	{	2 alc. JAVILLIER (cité par RIBAUT). 2 alc. WOLF.
Strychnine	{	4 alc. BERTRAND. 4 alc. NORTH et BEAL. moins de 4 alc. WOLF. 3,5 alc. STUBER.
Strychnolethaline		3 alc. BERREDO CARNEIRO.
Thébaïne		4 alc. WOLF.
Théobromine		4 alc. NORTH et BEAL.
Vératrine	{	moins de 4 alc. NORTH et BEAL. moins de 4 alc. WOLF (en solution alcoolique seulement).

Essais personnels.

En résumé, on constate que dans de nombreux cas l'on ne peut obtenir de résultats satisfaisants qu'en substituant au coefficient théorique un coefficient expérimental qui en diffère plus ou moins et, dans le premier cas, on tend à admettre pour les silicotungstates une formule différent nettement de $\cdot 1/4$. Nous avons cru qu'il n'était pas inutile de vérifier nous-même la formule de certains des précipités que nous avons obtenus. Nous y avons été amenée à la suite de diverses observations faites sur le dosage colorimétrique de ROJAHN et SEIFERT [43], observations que l'on trouvera dans les chapitres suivants.

Dans chaque cas particulier la solution alcaloïdique a été soumise à deux essais :

1.) Précipitation en suivant la méthode de G. BERTRAND, calcination du silicotungstate et pesée du résidu de calcination.

2.) Précipitation, simultanément, d'une autre portion de la liqueur alcaloïdique, dans le but non plus de calciner le silicotungstate, mais de le décomposer par l'ammoniaque pour doser séparément l'acide silicotungstique et l'alcaloïde combiné.

Cas de la cocaïne.

Nous avons préparé une solution de chlorhydrate de cocaïne Codex contenant 0,50 gr. de chlorhydrate de cocaïne, c'est-à-dire 0,4462 gr. de cocaïne base.

1° Précipitation selon la méthode BERTRAND.

10 cc. de solution correspondant à 0,0446 gr. de cocaïne sont additionnés à froid de 2,5 cc. de solution d'acide silicotungstique et de ClH Q.S. 3 %. Après repos, le précipité est lavé, séché et calciné.

Le résultat de la pesée est de 0,1070 gr.

En utilisant le coefficient communément admis, correspondant à un précipité à 4 molécules d'alcaloïde pour une d'acide silicotungstique, soit 0,4261, on obtient : $0,1070 \times 0,4261 = 0,0455$ au lieu de 0,0446 mis en œuvre.

Erreur relative : + 2 %.

2° Décomposition par l'ammoniaque.

Une prise d'essai identique à la précédente a été précipitée, en même temps, dans les mêmes conditions. Les lavages ont été effec-

tués par centrifugation, jusqu'à élimination complète de l'acide silicotungstique, comme dans 1° et le précipité a été décomposé par addition d'ammoniaque jusqu'à virage du tournesol et le tout épuisé par l'éther à trois reprises :

a) évaporation de la partie aqueuse et calcination.. Cette opération a conduit à une pesée de 0,0995 gr. En multipliant par 0,4261 on obtient 0,0429 au lieu de 0,0446.

Erreur relative : — 3,8 % (un peu d'acide silicotungstique a été entraîné par l'éther, on le caractérise d'ailleurs par une très faible réaction positive au chlorure titaneux, du résidu d'évaporation de l'éther).

b) évaporation de l'éther et pesée du résidu.

L'éther, après évaporation à basse température, a laissé un résidu de 0,0457 gr. Il aurait fallu 0,0446. On voit ici le même petit excès signalé quelques lignes plus haut, excès dû à un faible entraînement d'acide silicotungstique par l'éther. Il suffit d'ailleurs d'ajouter à ce résidu une goutte de solution de chlorure titaneux pour obtenir une très faible coloration bleue.

L'étude simultanée de la calcination du silicotungstate de cocaïne et de sa décomposition par l'ammoniaque nous permet de confirmer l'existence dans les conditions opératoires où nous nous plaçons d'un silicotungstate de cocaïne renfermant 4 molécules de cocaïne pour 1 d'acide silicotungstique. Le coefficient à utiliser dans ce cas est bien : 0,4261.

Cas de la quinine.

Nous avons essayé une solution de chlorhydrate basique de quinine dans les mêmes conditions. La solution, renfermant 0,50 gr. % de chlorhydrate basique de quinine, présentait une déviation polarimétrique de — 1°4 en tube de 2 dm. Le pouvoir rotatoire du chlorhydrate basique du Codex est $[\alpha] = -147^{\circ}8$. La solution que nous avons étudiée correspond ainsi à 0,408 gr. % de quinine base.

1° Précipitation selon la méthode de BERTRAND.

100 cc. de solution, correspondant à 0,0408 gr. de quinine base ont été additionnés de 5 cc. de solution d'acide silicotungstique et le tout a été amené à une concentration en ClH officinal de : 2 %.

Après repos, le précipité a été lavé, séché, calciné et pesé. Le résultat de la pesée est : 0,1854 gr.

Le coefficient théorique calculé pour deux molécules de quinine (la quinine présente deux azotes basiques) par molécule d'acide silicotungstique est 0,227. En multipliant le résultat de la calcination 0,1854 par 0,227, on trouve 0,0420, chiffre un peu élevé. Le coefficient indiqué par YVON : 0,22 conduit au chiffre tout à fait exact de : 0,0408.

2° Décomposition par l'ammoniaque.

Une prise d'essai identique à la précédente a été précipitée, en même temps, dans les mêmes conditions. Le précipité a été lavé par centrifugation, puis décomposé par l'ammoniaque. La quinine déplacée a été dissoute par épuisement de la liqueur au moyen d'éther-chloroforme. L'éther-chloroforme a été séparé.

a) évaporation de la partie aqueuse et calcination.

La pesée du résidu a donné : 0,1754 gr.

b) évaporation de l'éther-chloroforme.

L'évaporation de l'éther-chloroforme a conduit à une pesée de 0,0410. La quinine avait donc été complètement précipitée et a été totalement récupérée.

Dans ce cas, encore, nous sommes amenée à admettre l'existence d'un silicotungstate de quinine renfermant 2 molécules d'alcaloïde pour 1 d'acide silicotungstique, selon les conclusions généralement adoptées. Le coefficient calculé est 0,227. S'il semble plus judicieux d'employer 0,22 indiqué par YVON, cela n'infirme pas la composition acceptée pour le silicotungstate.

Cas de la caféïne.

BERTRAND admettait la formule $\text{SiO}_2, 12 \text{ WO}_3, 3 (\text{C}_8 \text{ H}_{10} \text{ N}_4 \text{ O}_2)$; puis BONN et DESGREZ [7], appliquant la précipitation de l'acide silicotungstique au dosage de la caféïne dans les extraits de café, utilisent le coefficient 0,2236, calculé d'ailleurs sur la caféïne hydratée. Si, en effet, la combinaison est bien celle qu'a indiquée BERTRAND, si on calcule en caféïne anhydre, le coefficient doit être 0,2728 (P.M. = 194). Nous avons effectué nous-même des dosages de caféïne par la méthode de BERTRAND, et nous nous sommes aperçue très vite que nous avions des résultats irréguliers, nettement inférieurs aux résultats

attendus et l'écart est d'autant plus grand que les lavages ont été plus prolongés. Le lavage dans le cas de la caféine est très délicat. Le silicotungstate se décompose facilement et il faut pour avoir un dosage correct arrêter le lavage exactement au moment voulu. On peut y arriver de la façon suivante : laver avec très peu d'eau et s'arrêter avant que ne commence la décomposition, c'est-à-dire au moment où les eaux de lavage après n'avoir plus donné qu'un louche par addition de quelques gouttes de solution de caféine donnent à nouveau un précipité plus abondant. Dans ce cas seulement, les résultats sont exacts et l'on peut admettre que la formule à 3 molécules d'alcaloïde pour une d'acide silicotungstique est correcte. C'est ce que nous avons vérifié de la façon suivante :

Une solution de caféine à 0,50 % a été soumise aux mêmes essais que la cocaïne et la quinine.

1° Précipitation selon la méthode de BERTRAND.

10 cc. de la solution de caféine, correspondant à 0,050 gr. de caféine, ont été additionnés de 5 cc. de solution d'acide silicotungstique et de q. s. d'acide chlorhydrique pour obtenir une teneur en acide chlorhydrique officinal de 3 %. Nous avons ensuite porté le mélange au bain-marie pour faciliter le rassemblement et la filtration du silicotungstate. Après repos, le précipité a été recueilli sur un filtre, lavé sur ce filtre avec de l'eau chlorhydrique à 3 % dans les conditions que nous avons décrites plus haut. La pesée du résidu de calcination a été de : 0,2146 gr., résultat qui, multiplié par 0,2236, donne 0,048 gr. au lieu de 0,050 gr.

Sur une prise d'essai identique, nous avons poussé les lavages beaucoup plus loin et ceci nous a conduit à peser un résidu de calcination de 0,1541 gr. qui, multiplié par 0,2236, donne 0,03445 gr., qui est notablement inférieur au chiffre théorique.

2° Décomposition par l'ammoniaque.

10 cc. de la solution de caféine ont été précipités par l'acide silicotungstique dans les mêmes conditions que dans le cas 1°.

Le précipité a été lavé par centrifugation, puis délayé dans quelques cc. d'eau et traité par l'ammoniaque. La caféine ainsi précipitée a été redissoute par 3 épuisements au moyen de chloroforme. Le chloroforme séparé a été évaporé et le résidu d'évaporation a été pesé. Nous avons ainsi récupéré 0,0485 gr. de caféine et le résidu de calci-

nation de la liqueur aqueuse a permis de retrouver 0,0480 gr. de caféine. En soignant particulièrement les lavages, il est ainsi possible de trouver des résultats corrects. Toutefois, nous avons fait d'autres essais parallèles, sans précautions spéciales au moment du lavage et nous avons obtenu des résultats peu comparables entre eux. C'est ainsi que deux prises d'essai identiques ont conduit à des résultats d'évaporation du chloroforme de 0,0357 gr. et 0,0401 gr., qui sont loin tous les deux de 0,50 gr. mis en réaction.

Nous sommes ainsi amenée à admettre la formule du silicotungstate de caféine SiO_2 12 WO_3 3 caféine, comme l'avait affirmé BERTRAND [4], BONN et DESGREZ [7], HEIDUSCHKA et WOLF [21]. On peut s'étonner que la composition soit différente de la combinaison habituelle et que 3 molécules seulement au lieu de 4 entrent en combinaison. Jusqu'ici, personne n'a tenté d'expliquer ce fait.

Envisageons maintenant quelques cas ayant donné lieu à discussion — en particulier le cas de l'hydrastine, le cas de la strychnine et celui de la brucine.

L'hydrastine.

NORTH et BEAL [39] ont donné la formule SiO_2 12 WO_3 4 alc. Nous n'avons pas trouvé d'autres indications concernant la formule du silicotungstate d'hydrastine.

Nous avons préparé une solution d'hydrastine (*) à 0,50 % dans l'eau chlorhydrique à 3 % et nous avons suivi la technique décrite antérieurement.

1° Précipitation et calcination selon la méthode de BERTRAND.

1° Précipitation et calcination selon la méthode de BERTRAND. 10 cc. de la solution envisagée contenant 0,05 gr. d'hydrastine dans l'eau chlorhydrique à 3 % sont additionnés de 4 cc. de solution d'acide silicotungstique à 5 %. Nous avons laissé reposer, recueilli le précipité, l'avons lavé sur le filtre. Le silicotungstate a été ensuite calciné et

(1) Nous remercions ici M. DELOURME, des Laboratoires HOUDÉ, qui a mis à notre disposition l'hydrastine sur laquelle nous avons travaillé.

le résidu a été pesé. Les chiffres moyens sont 0,1042 gr., ce qui con-

duit au coefficient expérimental suivant : $\frac{500}{104,2} = 0,4798$ faisant ad-

mettre la formule SiO_2 12 WO_3 3,5 alc. En effet, le coefficient théorique calculé dans ce cas est :

$$\frac{383 \times 3,5}{2844} = 0,4713$$

Le coefficient théorique pour un silicotungstate à 4 alcaloïdes

serait $\frac{383 \times 4}{2844} = 0,5386$ qui, comme on le voit, s'éloigne beaucoup

plus du coefficient déterminé par l'expérience, que le coefficient calculé pour un silicotungstate à 3,5 alcaloïdes :

$$\frac{0,4798 - 0,4713}{0,4713} = + 1,8 \%$$

$$\frac{0,4798 - 0,5386}{0,5386} = - 10,9 \%$$

2° Décomposition par l'ammoniaque.

L'opération a été conduite comme dans les autres cas.

L'hydrastine reprécipitée par l'ammoniaque a été dissoute au moyen du chloroforme.

L'évaporation du chloroforme a conduit aux résultats suivants : 0,0507 gr. La récupération de l'hydrastine a donc été totale.

La solution aqueuse renfermant l'acide silicotungstique libéré a été évaporée et le résidu d'évaporation a été calciné et pesé. Résul-

tat : 0,1030 gr., d'où coefficient : $\frac{0,050}{0,1030} = 0,4854$. Ce coefficient

est, comme on le voit, assez voisin de celui trouvé dans le cas de la calcination. En raison des pertes possibles résultant d'une manipulation plus compliquée, nous croyons bon d'adopter comme coefficient expérimental celui trouvé dans le cas le plus simple et qui est de 0,4798. C'est d'ailleurs, comme nous le verrons dans la deuxième partie de ce travail, celui qui nous a donné satisfaction pour l'essai des préparations galéniques d'Hydrastis.

La strychnine.

Nous avons préparé une solution de strychnine à 0,50 % et en avons traité 10 cc. correspondant à 0,05 gr. de strychnine base.

1° Précipitation du silicotungstate et calcination selon la méthode de BERTRAND.

10 cc. de solution de strychnine ont été additionnés de 2,5 cc. solution d'acide silicotungstique, et de q. s. d'acide chlorhydrique pour obtenir une teneur en ClH de 2 %. En milieu neutre nous n'avons pas pu réussir la séparation du silicotungstate ni par filtration, ni par centrifugation. Nous avons effectué la précipitation en milieu acide. Le précipité traité dans les conditions habituelles a laissé un résidu de calcination de : 0,1185 gr.

2° Décomposition par l'ammoniaque.

Un précipité de silicotungstate de strychnine identique à celui que nous venons d'envisager a été divisé par quelques cc. d'eau et additionné de quelques gouttes d'ammoniaque (q. s. pour obtenir un virage du tournesol : une dizaine de gouttes dans le cas étudié). Le silicotungstate disparaît pour faire place à un précipité de strychnine cristallisée qu'on dissout par trois épuisements au chloroforme dans une ampoule à décantation.

a) évaporation et calcination de la partie aqueuse :

La solution aqueuse contenant l'acide silicotungstique qui était combiné à la strychnine a été évaporée et le résidu d'évaporation calciné et pesé. La pesée a été de : 0,1175 gr.

b) évaporation du chloroforme :

Le chloroforme soutiré a été évaporé. Le résidu d'évaporation a été repris par 15 cc. d'acide sulfurique N/100. La dissolution a été assurée par un séjour d'un quart d'heure au B.M. On a procédé alors au dosage de l'excès d'acide par la soude N/100 en présence de rouge de méthyle. Il a été consommé 14,36 cc. d'acide pour neutraliser la strychnine, ce qui correspond en strychnine à :

$$0,00334 \times 14,36 = 0,0479 \text{ gr. au lieu de } 0,050 \text{ gr.}$$

Il vaut mieux doser la strychnine volumétriquement que de la peser, en raison des combinaisons strychnine-chloroforme difficilement dissociables.

Ces résultats permettent de faire les calculs suivants : Le résidu de calcination de l'acide silicotungstique combiné, dans le cas du

dosage de BERTRAND, est de 0,1185 ; il est de 0,1175 dans le cas de la décomposition par l'ammoniaque. En admettant la formule de BERTRAND SiO_2 12 WO_3 , 4 strychnine, le coefficient est : 0,469. Ce chiffre semble trop fort :

$$0,1185 \times 0,469 = 0,0556 \text{ au lieu de } 0,050$$

$$0,1175 \times 0,469 = 0,0551 \text{ au lieu de } 0,050$$

Le coefficient calculé pour 3,5 molécules d'alcaloïde, unies à une molécule d'acide silicotungstique est de 0,411 ;

Appliquons ce coefficient au résidu de calcination du silicotungstate de strychnine ou au résidu d'évaporation de la solution aqueuse provenant du dédoublement par l'ammoniaque, calciné :

$$0,1175 \times 0,411 = 0,4829$$

$$0,1185 \times 0,411 = 0,4870$$

deux chiffres qui se rapprochent plus des chiffres théoriques.

$$0,487$$

En effet $\frac{0,487}{0,500} = 0,974$ au lieu de 1 et d'autre part l'erreur est

de : — 2,6 %, tandis qu'avec le premier coefficient :

$$0,556$$

$$\frac{0,556}{0,500} = 1,11 \text{ au lieu de } 1$$

$$0,500$$

l'erreur est ici de : $\div 11$ %.

Tout se passe donc comme si la formule théorique était :



Les chiffres trouvés expérimentalement par décomposition du silicotungstate sont tout à fait d'accord avec cette formule :

Strychnine récupérée à partir de la solution chloroformique 0,479

Le résidu de calcination du silicotungstate est de..... 0,1175

En multipliant 0,1175 par le coefficient 0,411 on trouve 0,483, qui est bien voisin de 0,479.

La formule du silicotungstate de strychnine est donc bien celle-ci ; mais le but poursuivi au cours du dosage n'est pas tant de savoir combien d'alcaloïde est effectivement combiné à l'acide que de savoir combien d'alcaloïde il y avait à doser. Dans ce cas il faut prendre un coefficient expérimental un peu plus élevé que ce coefficient théorique, en raison probablement de la solubilité du silico-

tungstate d'alcaloïde. Le coefficient de 0,422 adopté habituellement semble convenir parfaitement :

$$0,1185 \times 0,422 = 0,050 \text{ exactement}$$

C'est d'ailleurs là une remarque qu'avaient déjà faite STUBER et KLJATSCHKINA [45].

Cas de la brucine.

Nous avons essayé la même expérience avec une solution de brucine. Nous avons fait une solution de brucine à 0,50 gr. pour 100 cc. de solution, soit 0,42 gr. d'alcaloïde anhydre.

Nous n'avons obtenu quantitativement que des résultats peu intéressants, ce qui confirme les variations de formule du silicotungstate suivant son mode de préparation.

Conclusions.

Laissons de côté le cas de la brucine, qui ne semble pas donner de combinaisons définies.

Pour la caféine, les auteurs sont d'accord, il nous suffit donc de constater que nous nous trouvons là devant un silicotungstate renfermant 3 molécules d'alcaloïde pour 1 d'acide silicotungstique.

Dans le cas de la strychnine et de l'hydrastine, nous sommes amenée à admettre une formule de la forme : 2 SiO_2 , 24 WO_3 , 7 alcal. C'est un fait identique à celui qui a été signalé pour l'aconitine et la lobéline. Il paraît assurément étrange que de telles combinaisons existent et que sur les 8 hydrogènes acides de 2 molécules d'acide silicotungstique, 7 seulement soient remplacés par la base alcaloïdique.

Y a-t-il adsorption d'un excès d'acide silicotungstique par le précipité ? L'existence d'un tel phénomène est parfaitement admissible. Mais il est étonnant que l'adsorption soit toujours de même grandeur.

Dans des cas comme ceux-ci on a donc, sur la formule théorique un excès d'acide silicotungstique par rapport à l'alcaloïde précipité.

Deux choses sont à envisager : la solubilité non négligeable du silicotungstate d'alcaloïde dont on a parlé et d'autre part l'adsorption possible d'acide silicotungstique par le précipité. Divers autres facteurs peuvent aussi intervenir et tout récemment VALLERY [50],

reprenant cette étude, a proposé une formule générale dans laquelle il tient compte des divers facteurs.

Le travail de VALLERY n'a paru jusqu'à présent que sous forme d'une note aux *Comptes Rendus*, nécessairement brève, dépourvue des exemples numériques indispensables pour la discussion et nous ne pouvons que tenter de résumer la conception de VALLERY :

Dans ce travail portant sur l'atropine et l'hyoscyamine, VALLERY a essayé de donner une formule exprimant les variations du coefficient en fonction des diverses grandeurs susceptibles de le faire varier : quantité d'alcaloïde mise en œuvre, poids d'alcaloïde non précipité par suite de la réversibilité de la réaction en cause et de la solubilité du silicotungstate, adsorption d'une faible quantité d'acide silicotungstique en excès, dissolution par la liqueur de lavage d'une fraction assez importante du précipité et enfin température de précipitation.

Pour l'atropine l'auteur établit une courbe représentative du terme correctif :

$$Y = \frac{2844}{4 \times 289} (x - S) - F s, O(x)$$

289 = poids moléculaire de l'atropine

2844 = poids moléculaire de l'acide silicotungstique

s = poids d'alcaloïde non précipité.

Les poids d'alcaloïde étant portés en abscisses et les poids d'acide silicotungstique en ordonnées, la courbe Y est constituée initialement par une partie curviligne à concavité tournée vers l'axe des ordonnées, prolongée par une partie rectiligne. Quant à la courbe F, s, O(x) elle a sa concavité tournée vers l'axe des abscisses et possède naturellement une asymptote correspondant à la partie rectiligne de Y. L'allure de cette courbe est tout à fait conforme à la signification donnée du terme correctif F, s, O(x).

En incluant le premier terme soustractif — 2.46 s dans le deuxième et ne considérant que la partie rectiligne de la fonction Y, celle-ci est représentée par la fonction linéaire :

$$Y = 2,46 x - K, s, O$$

telle est l'équation simplifiée qui doit permettre l'application sans difficultés particulières au dosage de l'atropine et de l'hyoscyamine, de leurs préparations, à l'état de silicotungstate, à la seule condition

qu'aux températures du laboratoire les plus élevées, par conséquent les plus défavorables puisque la constante K , S , croît avec la température, la partie rectiligne de Y correspond, quant à son origine, à une valeur suffisamment faible de x .

Signalons que l'application du même mode opératoire au dosage de l'aconitine a permis à VALLERY d'établir qu'une formule analogue devrait être utilisée. « Cette relation implique que la formule générale des silicotungstates d'alcaloïdes s'applique encore aux silicotungstates d'aconitine contrairement à ce que pourrait faire supposer le coefficient de multiplication empirique figurant dans la Pharmacopée Française ».

Peut-être des expériences de la nature de celles de VALLERY expliqueront-elles les formules données par divers auteurs pour les silicotungstates de strychnine, de lobéline et que nous avons nous-même données pour celui d'hydrastine.

En ce qui nous concerne, nous plaçant exclusivement au point de vue pratique de l'essai des drogues et des préparations galéniques, nous nous bornerons, dans nos recherches exposées plus loin, à utiliser le coefficient expérimental établi plus particulièrement pour des conditions déterminées d'acidité, de concentration et de température.

ETUDE DES PROCEDES VOLUMETRIQUES

Le dosage volumétrique

Toutes les méthodes que nous venons d'exposer ne sont en réalité que des cas particuliers de la technique de G. BERTRAND. Quelques auteurs ont proposé de supprimer la calcination et de faire un dosage volumétrique en employant des solutions titrées d'acide silicotungstique (comme on emploie des solutions titrées d'acide sulfurique). Les premiers semblent être HEIDUSCHKA et WOLF [21]. Voici le principe de leur méthode : une solution de base alcaloïdique dans l'eau ou dans l'alcool dilué est additionnée d'un léger excès de solution d'acide silicotungstique, excès qui est ensuite déterminé par la soude en présence de rouge de méthyle. Cette technique exige malgré tout la séparation du précipité et son lavage. La séparation se fait après addition de ClNa et le lavage avec de l'eau contenant 0,1 % de ClNa . Ces lavages entraînent tout l'excès d'acide, ce que les auteurs vérifient.

NORTH et BEAL [40], reprenant l'idée du dosage volumétrique, étudient une possibilité de dosage en présence du précipité. Pour cela, ils cherchent un indicateur donnant par réduction de l'acide silicotungstique une teinte nette. Ils ont essayé le chlorure titaneux et le sulfhydrate d'ammoniaque, « la solution de chlorure titaneux, s'est montrée peu prometteuse ; elle ne peut être employée comme indicateur interne parce qu'elle réduira même le précipité alcaloïdique ».

« Il est aussi assez difficile de conserver le réactif. En indicateur externe, les résultats sont nettement satisfaisants, le point final : une coloration bleue étant plutôt faible ».

On ne peut employer le sulfhydrate d'ammoniaque qui, en liqueur acide, donne un précipité.

Les leucobases du vert malachite et du bleu de méthylène étant très instables en présence de l'oxygène atmosphérique, les auteurs ont employé le vert malachite en solution chlorhydrique modérément concentrée. Dans ces conditions, la solution au lieu d'être bleu-vert prend une teinte orange-rouge. La coloration caractéristique reparaît par dilution avec une forte quantité d'eau, mais une goutte de solution d'acide silicotungstique 0,01 moléculaire, dans 200 cc. de Cl H 0,6 N restaure la couleur de l'indicateur, quand on mêle sur une plaque de porcelaine, une goutte de chaque solution.

KLJATSCHKINA et STRUGADSKI [29] à propos des silicotungstates de brucine et de strychnine envisagent un dosage volumétrique en ajoutant à la solution d'alcaloïde, une solution centimoléculaire d'acide silicotungstique jusqu'à précipitation exacte. Adoptant la formule du silicotungstate de brucine et de strychnine à 3,5 mol. d'alcaloïde pour 1 d'acide, ils font le calcul en disant que 1 cc. d'acide silicotungstique centimoléculaire correspond à 13,79 mg. de brucine et à 10,69 mg. de strychnine.

Nous n'avons pas retenu ces techniques.

ETUDE

DES PROCÉDES COLORIMÉTRIQUES

Nous avons décrit avec détails le dosage pondéral : nous l'utiliserons dans la deuxième partie de ce travail.

Nous n'avons pas insisté sur le dosage volumétrique que nous ne retiendrons pas pour la partie expérimentale.

Nous allons maintenant envisager le dosage colorimétrique.

Les premiers qui aient dosé les alcaloïdes par colorimétrie au moyen de l'acide silicotungstique semblent être ROJAHN et SEIFERT [43] qui opèrent la précipitation en milieu chlorhydrique, isolent le précipité, le décomposent par l'ammoniaque, enlèvent l'alcaloïde par un solvant convenable et dans la liqueur privée d'alcaloïde dosent l'acide silicotungstique par réduction au moyen du chlorure titaneux qui donne, dans ces conditions, une coloration bleue appréciable au colorimètre.

MASCRÉ et LOISEAU [37] ont retenu le principe de ROJAHN et SEIFERT mais, au lieu de déterminer la quantité d'acide silicotungstique combinée, ils dosent l'excès de réactif non utilisé en se servant de la même réaction colorée que ROJAHN et SEIFERT.

Nous allons examiner successivement d'abord la méthode MASCRÉ et LOISEAU que nous comparerons à la méthode gravimétrique puis à la méthode de ROJAHN et SEIFERT.

Etude critique de la méthode Mascré-Loiseau.

La technique de MASCRÉ et LOISEAU telle que nous l'avons utilisée au cours de tous nos essais est la suivante :

Une prise d'essai de liqueur alcaloïdique correspondant à environ 0,01 gr. d'alcaloïde est précipitée par un excès connu de solution chlorhydrique d'acide silicotungstique, solution ainsi préparée :

Acide silicotungstique pur R. P.....	5 gr.
Acide chlorhydrique pur officinal	2 cc.
Eau distillée	Q.S. 100 cc.

La précipitation se fait à froid.

Dans quelques cas particuliers, le précipité est porté au bain-marie bouillant pendant quelques minutes pour en permettre le rassemblement. La précipitation est faite directement dans un tube à centrifuger de dimensions convenables (15 cc. en général).

Le précipité, après repos de 2 à 3 heures, est rassemblé par centrifugation, lavé à deux reprises par l'eau chlorhydrique à 2 % et par centrifugation.

Les liqueurs surnageantes après chacune de ces opérations sont réunies dans une fiole jaugée de 20 cc. ou de 10 cc. selon les cas, et le volume est parfait au trait de jauge par addition de quelques cc. d'eau chlorhydrique à 2 %.

Simultanément et, autant que possible, avec les mêmes pipettes, on prépare un étalon constitué de la façon suivante :

Une quantité de solution d'acide silicotungstique égale à celle qui est employée pour la précipitation est amenée au volume final.

Une partie aliquote de chacune de ces solution est prélevée et additionnée du dixième de son volume de solution de chlorure titané, ce qui développe immédiatement une coloration bleu-sombre qui atteint d'emblée son maximum et se montre très stable.

Les auteurs préparent cette solution de chlorure de titane de la façon suivante :

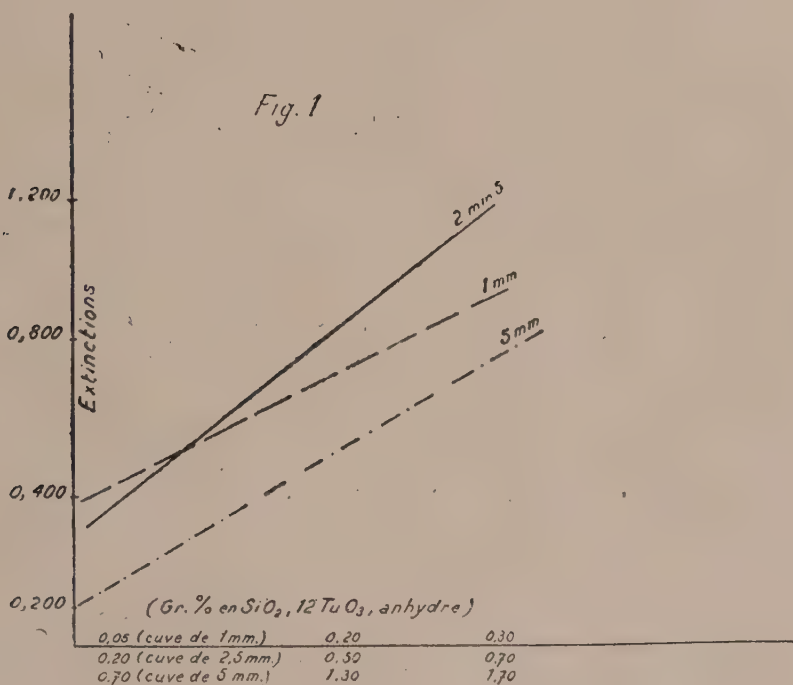
Solution de chlorure titané à 15 % R.P.	10 cc.
Acide chlorhydrique 2 N.....	Q.S. 100 cc.

Cette solution est conservée dans une burette automatique sous atmosphère de CO₂ selon les indications d'ESPIL et GENEVOIS [13]. Elle est alors stable environ 1 mois.

L'évaluation colorimétrique est faite au photomètre de PULFRICH, sous épaisseur convenable (entre 1 et 5 mm., selon les intensités de coloration) en utilisant un écran rouge déterminé par l'établissement de la courbe de couleur typique (écran correspondant à une longueur d'onde de 729 millim.).

On obtient ainsi le coefficient d'extinction pour chacune des solutions examinées : étalon et dosage. En se reportant à une courbe éta-

blie une fois pour toutes au moyen de solution d'acide silicotungstique titrée par évaporation, calcination et pesée, on obtient les pourcentages d'acide silicotungstique contenus dans ces solutions. Nous reproduisons ici ces courbes établies pour 3 épaisseurs de couche :



En ramenant le pourcentage à la quantité d'acide silicotungstique effectivement contenue dans le volume envisagé, la différence entre ces deux titres donne l'acide silicotungstique disparu par précipitation.

Il est alors aisé d'en déduire le taux d'alcaloïde en faisant jouer le coefficient admis d'après la formule du silicotungstate en réaction.

Inversement, cette méthode peut permettre de déterminer le coefficient en utilisant des solutions d'alcaloïdes titrées par une autre méthode.

Remarquons dès maintenant que les coefficients à utiliser ne sont pas rigoureusement les mêmes en gravimétrie et en colorimétrie: cette différence provient sans doute de ce que, dans cette technique, les lavages sont effectués par centrifugation, c'est-à-dire avec des quantités de liquide de lavage beaucoup moindres et, par suite, les pertes

en silicotungstate par dissociation ou par dissolution sont ainsi réduites au minimum. Le coefficient à utiliser se rapproche plus du coefficient théorique que le coefficient déterminé empiriquement et utilisé en gravimétrie.

Voici une application numérique donnée par les auteurs :

1° Solution de sulfate d'atropine à 1 % de sulfate d'atropine, soit 0,8329 d'atropine base ;

Coefficient d'absorption observé :

A.) Pour le témoin 0,682

B.) Après précipitation 0,521

Pourcentage en anhydride silicotungstique :

Pour A 0,404

Pour B 0,302

Pour les 20 cc. des liqueurs mises en œuvre, la teneur effective en anhydride est :

Pour A 80 millig. 8

Pour B 60 millig. 2

La quantité d'anhydride précipitée par l'alcaloïde est :

$$80,8 - 60,2 = 20 \text{ mg } 6$$

La quantité correspondante d'alcaloïde est obtenue en multipliant le poids d'anhydride précipité par le coefficient 0,4064. C'est la quantité d'alcaloïde contenue dans 1 cc. de la solution soumise à l'essai. En multipliant par 100, on aura le titre de la solution.

On trouve ainsi : $20,6 \times 0,4064 \times 100 = 0,8371$. Le titre réel étant de 0,8329, l'erreur se trouve être de + 0,5 %.

Discussion du dosage colorimétrique

Nous venons de voir les résultats numériques donnés par MASCRÉ et LOISEAU avec l'exposé de leur méthode. Les auteurs nous avaient demandé de vérifier leurs premiers résultats. Nous avons donc été amenée à utiliser leur méthode en la comparant à la méthode gravimétrique et aussi à la méthode de ROJAHN et SEIFERT.

La comparaison entre les méthodes gravimétrique de BERTRAND et colorimétrique de MASCRÉ et LOISEAU, nous a toujours permis de constater un accord satisfaisant entre les deux techniques.

Nous avons voulu ensuite comparer les méthodes colorimétriques entre elles, et, pour cela, nous avons expérimenté la méthode de ROJAHN et SEIFERT, dont nous avons donné le principe plus haut (p. 43).

Etude critique du procédé Rojahn et Seifert

Nous avons été frappé par certaines observations qui nous paraissent peu justifiées. ROJAHN et SEIFERT remarquent que, après séparation de l'alkaloïde la liqueur aqueuse précipite par l'acide chlorhydrique et attribuent cette précipitation à la strychnine. La chose est peu vraisemblable, étant donné la solubilité du sulfate de strychnine. D'ailleurs l'expérience montre qu'une solution de silicotungstate d'ammoniaque acidifiée dans les mêmes conditions donne un précipité comparable. Quelle que soit la nature du précipité, sa présence apporte une gêne pour un dosage colorimétrique. D'autre part, ROJAHN et SEIFERT ne donnent pas de précisions sur le terme de comparaison à utiliser. Nous avons pensé nous servir d'une solution d'acide silicotungstique de même titre que celle qui sert à effectuer la précipitation, imitant en cela la méthode MASCRÉ. Au moment où, après acidification nous avons ajouté le chlorure titaneux, nous avons eu la confirmation d'une modification importante dans la nature des corps à doser, modification que le trouble provoqué par l'addition chlorhydrique nous laissait prévoir. En effet, alors que l'addition de chlorure titaneux à une solution d'acide silicotungstique en milieu chlorhydrique, provoque l'apparition d'une coloration bleu-noir, la même addition, à la solution d'acide silicotungstique traitée comme ci-dessus (page 42), provoque l'apparition d'une coloration bleu-vif tout à fait différente, beaucoup plus intense et moins stable. Rappelons que la solution qui se comporte ainsi provient de la décomposition du silicotungstate d'alkaloïde au moyen de l'ammoniaque. L'alkaloïde a été enlevé par un solvant convenable.

La comparaison est donc impossible dans ces conditions.

Nous nous sommes assurée, en pesant d'une part l'alkaloïde et d'autre part l'acide silicotungstique après dissociation du silicotungstate que la décomposition par l'ammoniaque était complète. Voici les résultats que nous avons obtenus :

Deux prises d'essai de 10 cc. de solution de strychnine à 0,50 % sont additionnées d'acide silicotungstique : soit 0,05 gr. de strychnine.

a) L'une des prises d'essai est traitée selon la technique de BERTRAND et calcinée.

Le résidu de calcination obtenu a été de 0,1246 gr.

En utilisant le coefficient de 0,422 on obtient le résultat suivant :

$$0,1246 \times 0,422 = 0,0526 \text{ gr.}$$

b) L'autre prise d'essai est précipitée dans les mêmes conditions, lavée par centrifugation, additionnée d'ammoniaque. La suspension de strychnine obtenue est transvasée dans une ampoule à décantation et épuisée à 3 reprises par le chloroforme. La partie aqueuse est alors évaporée en creuset taré. Le résidu est calciné et pesé.

Résidu obtenu : 0,1232 gr.

Dans les mêmes conditions, la calcination du silicotungstate avait donné 0,1246. Donc pratiquement les mêmes résultats : le déplacement de l'alcaloïde est complet.

L'évaporation du chloroforme, d'autre part, abandonne un résidu qui donne les réactions d'identité de la strychnine et qui ne se colore pas ou à peine par le chlorure titanéux.

La décomposition par l'ammoniaque est donc réelle et complète. On peut, par pesée, connaître la quantité d'alcaloïde combinée à l'acide silicotungstique. Pourquoi ne peut-on pas évaluer colorimétriquement l'acide silicotungstique combiné et ensuite libéré ?

Les poids des résidus de calcination correspondent exactement, qu'on opère la calcination du silicotungstate d'alcaloïde entier ou seulement la calcination de la partie silicotungstique privée d'alcaloïde par épuisement chloroformique. Il est probable que ce n'est pas de l'acide silicotungstique habituellement utilisé que l'on régénère par acidification des liqueurs privées d'alcaloïde, mais peut-être ses constituants incomplètement recombines. Si, en effet, on chauffe longtemps un tel mélange, on finit par obtenir par le titane la coloration bleue cherchée, l'acide silicotungstique se trouve à nouveau formé.

Nous avons essayé d'obtenir un déplacement de l'alcaloïde respectant l'acide silicotungstique.

La soude, la potasse ne nous ont pas donné satisfaction. Nous avons par contre obtenu des résultats intéressants en opérant cette dissociation par le *silicate de potassium* concentré. Il nous a alors été possible de faire des dosages colorimétriques après dissociation.

Dosages simultanés selon les techniques Mascré et Loiseau et Rojahn et Seifert

Voici la technique que nous avons suivie :

Une solution de strychnine est additionnée, en milieu légèrement acide (acidité chlorhydrique), d'acide silicotungstique en quantité convenable pour avoir un excès net. Le précipité est abandonné, comme dans les cas habituels des dosages selon la méthode MASCRÉ-LOISEAU, puis lavé deux fois par centrifugation.

Après ces lavages, dans le tube où s'est effectuée la précipitation, nous avons remis le précipité en suspension au moyen de quelques cc. d'eau distillée et nous avons alors ajouté quelques gouttes (2 ou 3) d'une solution concentrée de silicate de potassium jusqu'à virage au bleu de tournesol. Le contenu du tube est alors transvasé dans une petite ampoule à décantation, on y joint les eaux de lavage du tube et on procède à 3 épuisements par le chloroforme.

1.) Le chloroforme séparé est évaporé. Il laisse un résidu cristallisé donnant les réactions de la strychnine. Ce résidu dissous dans l'eau chlorhydrique ne se décolore pas par le chlorure titaneux.

2.) La partie aqueuse séparée, additionnée d'acide chlorhydrique jusqu'à acidification est amenée à 20 cc. On n'observe aucun trouble (si on a eu soin d'ajouter le silicate de potassium en quantité juste suffisante ; dans le cas contraire, on aurait un précipité gélatineux de silice). La solution se prête alors aisément aux dosages colorimétriques après addition de chlorure titaneux dans les conditions habituelles.

Exemples numériques

STRYCHNINE

Essai d'une solution de sulfate de strychnine.

Dosages simultanés par les méthodes MASCRÉ-LOISEAU, ROJAHN-SEIFERT. Nous avons mélangé 2 cc. de solution de sulfate de strychnine à 0,50 % et 2 cc. d'acide silicotungstique à 5 %.

Repos. Lavages habituels.

La liqueur surnageante et les eaux de lavage sont réunies et amenées à 20 cc. suivant la technique habituelle.

Lecture au photomètre de PULFRICH en cuve de 2 mm. 5.

Nous appellerons ce premier temps (1). Il donne l'acide silicotungstique en excès (technique MASCRÉ et LOISEAU).

Le précipité restant dans le tube est divisé, dissocié par le silicate, épuisé au chloroforme. Les nouvelles liqueurs aqueuses contenant l'acide silicotungstique qui était combiné à la strychnine, sont additionnées de ClH en quantité suffisante pour acidifier et ajustées à 20 cc., puis soumises à l'essai colorimétrique. Pour cet essai, 5 cc. sont placés dans une petite éprouvette et additionnés de 0,5 cc. de solution de chlorure titaneux. Lecture.

Nous appellerons ce deuxième temps (1').

On a évidemment préparé au moment de la précipitation une fiole témoin contenant 2 cc. de la solution d'acide silicotungstique et Q. S. d'eau chlorhydrique pour parfaire 20 cc.

	Lecture	A.S.T. %	A.S.T. de 20 cc.
Témoin	0,819	0,570 gr.	0,114 gr.
(I)	0,639	0,435 gr.	0,087 gr.
(1')	0,231	0,129 gr.	0,026 gr.

En additionnant l'acide silicotungstique en excès, surnageant, et l'acide silicotungstique dissocié à partir du silicotungstate de strychnine nous retrouvons bien l'acide silicotungstique mis en œuvre :

$$0,026 \text{ gr.} + 0,087 \text{ gr.} = 0,113 \text{ gr. au lieu de } 0,114 \text{ gr.}$$

D'autre part, la partie chloroformique a été évaporée et le résidu pesé. Nous avons retrouvé une moyenne de 10,2 mgr., chiffre légèrement plus élevé que le chiffre théorique qui est de 10 mgr.

Il nous semble tout à fait possible de décomposer un silicotungstate d'alcaloïde (ici de strychnine) et d'étudier séparément l'alcaloïde et l'acide silicotungstique.

La décomposition par le silicate de potassium semble donner de bons résultats. Nous avons toutefois voulu nous en assurer en opérant sur de plus fortes prises d'essai et en ayant recours, comme toujours, lorsqu'on cherche la précision, à la méthode de BERTRAND.

Nous avons tout d'abord titré notre solution de sulfate de strychnine par calcination du silicotungstate, préparé comme nous l'avons dit plus haut en étudiant le cas de la strychnine. La solution titre 0,50 gr. % de strychnine base.

Nous l'avons soumise :

- 1) à la décomposition par l'ammoniaque.
- 2) à la décomposition par le silicate de potassium.

Nous avons déjà décrit la décomposition par l'ammoniaque et nous avons vu que l'évaporation de la partie aqueuse et la calcination du résidu conduisait à une pesée de 0,1175 gr. ; et qu'en même temps

la partie chloroformique entraînait pratiquement toute la strychnine.

Nous avons opéré la décomposition par le silicate de potassium dans les mêmes conditions, mais dans ce cas évidemment on ne peut calciner pour avoir la quantité d'acide silicotungstique, le silicate n'étant pas volatil. On peut seulement effectuer la première partie de l'opération et évaporer le chloroforme.

Nous avons obtenu exactement les mêmes chiffres que dans le cas précédent. La décomposition par l'ammoniaque et par le silicate de potassium donnent donc des résultats tout à fait comparables, et on peut envisager le dosage colorimétrique de l'acide silicotungstique combiné à la strychnine après l'avoir libéré au moyen du silicate de potassium.

Notons en passant que, si dans les dosages par calcination, il est préférable d'utiliser un coefficient expérimental assez différent du coefficient théorique : 0,411 au lieu de 0,469 ; dans le cas des dosages colorimétriques au contraire, où l'on opère en solution moins diluée et surtout où on lave avec beaucoup moins de liquide, la dissolution du silicotungstate est beaucoup plus faible et on peut utiliser le coefficient théorique.

Dans l'exemple numérique donné plus haut, où nous avons trouvé expérimentalement qu'il y avait 0,026 gr. d'acide silicotungstique combiné $0,026 \times 0,411 = 0,0106$, c'est bien le coefficient théorique qu'il convient d'utiliser.

COCAINE

Sur une solution contenant 0,50 gr. % de chlorhydrate de cocaïne par conséquent 0.4462 % de cocaïne base nous avons appliqué simultanément la méthode MASCRÉ et LOISEAU et la méthode ROJAHN et SEIFERT en faisant la décomposition du silicotungstate par le silicate de potassium.

2 cc. de la solution sont additionnés de 2 cc. de la solution d'acide silicotungstique et la précipitation s'opère à froid selon les indications de VALETTE [48].

Ces 2 cc. contiennent 0,0089 gr. de cocaïne base.

Ensuite la solution est centrifugée, le culot de centrifugation lavé à deux reprises à l'eau acidulée.

La liqueur surnageante et les eaux de lavage sont réunies dans une fiole jaugée de 20 cc. et le volume amené à 20 cc. avec de l'eau aiguisée d'acide chlorhydrique. Désignons cette solution par la dénomination solution I.

Le précipité est traité à son tour : il est délayé dans quelques cc. d'eau et additionné de Q. S. de silicate de potassium pour faire virer le tournesol. On procède alors à l'épuisement dans une ampoule à décantation par 3 fois 15 cc. d'éther. L'éther séparé est évaporé à basse température et le résidu est pesé.

On obtient ainsi le poids de cocaïne contenu dans le silicotungstate. Pesée : 0,0090 gr.

D'autre part, la partie aqueuse est transvasée dans une fiole jaugée de 20 cc., additionnée de Q. S. de ClH pour acidifier et le volume parfait et 20 cc. Nommons (I') cette nouvelle solution.

On procède alors aux lectures colorimétriques en prélevant 5 cc. dans chaque fiole de 20 cc. et dans l'étalon préparé au début de l'expérience, comme d'habitude.

On additionne chaque prise d'essai de 0,5 cc. de solution de chlorure titaneux et on apprécie l'intensité de la coloration au photomètre. Les lectures ont été les suivantes (cuves de 2,5 mm.) :

	Lectures	A.S.T. dans 100 cc.	A.S.T. dans 20 cc.
Témoin	0,860	0,600 gr.	0,120 gr.
(I)	0,710	0,488 gr.	0,098 gr.
(I')	0,200	0,105 gr.	0,021 gr.

En appliquant la technique de MASCRÉ-LOISEAU on ferait le calcul en soustrayant :

$$0,120 - 0,098 = 0,022$$

et en utilisant le coefficient 0,4261, on trouverait 0,093 gr. de cocaïne (erreur : + 4,3 %), donc erreur par excès, fait que nous avons déjà constaté à propos de la strychnine.

En tenant compte uniquement du silicotungstate dissocié, on trouve $0,021 \times 0,4261 = 0,0089$, qui est le chiffre théorique.

Nous voyons en conclusion qu'il est possible de faire le dosage colorimétrique à partir du silicotungstate de cocaïne lui-même, comme nous l'avions fait pour la strychnine.

BRUCINE

Nous avons essayé la même expérience sur une solution de brucine. Nous avons fait une solution de brucine à 0,50 gr. pour 100 cc. de solution, soit 0,42 % d'alkaloïde anhydre.

Bien que nous n'ayons obtenu quantitativement que des résultats peu intéressants, en essayant de calciner le silicotungstate de brucine en vue du dosage, nous avons cependant essayé de dissocier le silico-

tungstate de brucine par le silicate de potassium pour voir si, là encore, le silicate de potassium respecterait l'acide silicotungstique et permettrait son appréciation colorimétrique, comme il l'avait fait pour la strychnine et la cocaïne et comme l'ammoniaque et la soude ne le font pas.

Nous avons obtenu les résultats attendus.

2 cc. de solution correspondant à 0,0084 gr. ont été additionnés de 2 cc. de solution d'acide silicotungstique. Repos, lavage à l'eau acidulée à 3 %, réunion des eaux de lavage et des liqueurs surnageantes. On obtient la solution (1) en complétant au volume de 20 cc.

D'autre part, dissociation du silicotungstate restant par le silicate de potassium, épuisement par le chloroforme et dosage colorimétrique. Voici les résultats obtenus :

	Lectures	Acide silicot. pour 100 cc.	Acide silicot pour 20 cc.
Témoin	0,805	0,557 gr.	0,111 gr.
(1)	0,665	0,453 gr.	0,091 gr.
(1')	0,167	0,082 gr.	0,016 gr.

0,111 — 0,091 = 0,020 notablement plus élevé que 0,016. Dissociation probable.

HYDRASTINE

Nous avons fait la même expérience sur une solution d'hydrastine à 0,50 % dans l'eau chlorhydrique à 3 % et nous avons suivi la technique décrite antérieurement.

Dosages simultanés selon MASCRÉ-LOISEAU et ROJAHN et SEIFERT.

2 cc. de solution correspondant à 0,010 gr. d'hydrastine sont additionnés de 2 cc. de solution d'acide silicotungstique et le mélange traité dans les conditions habituelles de la technique MASCRÉ-LOISEAU. La liqueur surnageante et les eaux de lavage constituent la liqueur (1).

Il a été ensuite procédé au traitement du précipité comme dans le cas précédent : dissolution de l'hydrastine par le chloroforme. La liqueur aqueuse ainsi privée d'hydrastine, acidifiée et amenée au volume de 20 cc. constitue la liqueur (2).

D'autre part, le chloroforme est évaporé et le résidu est pesé. Nous avons retrouvé par pesée 0,0105 gr., soit intégralement l'hydrastine mise en réaction.

Les lectures colorimétriques en cuve de 2,5 mm. ont été les suivantes :

	Lectures	A.S.T. pour 100 cc.	A.S.T. dans 20 cc.
Témoin	0,820	0,570 gr.	0,114 gr.
(1)	0,683	0,467 gr.	0,093 gr.
(2)	0,194	0,100 gr.	0,020 gr.

$0,114 - 0,093 = 0,021$. Ces 21 milligrammes d'acide silicotungstique représentent la différence de concentration en acide silicotungstique qui existe entre l'étalon et la liqueur de précipitation. Ils ont servi à précipiter 10 mgr. d'hydrastine ; nous les retrouvons dans la liqueur (2) provenant du dédoublement du précipité. Le chiffre trouvé est un peu plus faible : 0,020.

Le coefficient de conversion à utiliser dans ce cas serait : $10/21 = 0,4761$. Ce coefficient est voisin de celui que la calcination du silicotungstate d'hydrastine nous a permis de déterminer : 0,4798. Dans ce cas encore la colorimétrie donne une bonne approximation.

Dans tous ces exemples, nous avons constaté un accord constant entre les méthodes colorimétriques et les méthodes pondérales. Nous avons pu dissocier les silicotungstates et doser ensuite les constituants par pesée et colorimétrie.

Nous avons essayé la même série d'essais sur d'autres alcaloïdes avec des succès inconstants.

CAFEINE

Examinons d'abord le cas de la caféine.

Une solution de caféine à 0,50 % en milieu chlorhydrique est soumise à la précipitation silicotungstique et étudiée simultanément par les méthodes MASCRÉ-LOISEAU et ROJAHN-SEIFERT.

2 cc. de la solution de caféine sont additionnés de 2 cc. de solution d'acide silicotungstique et le mélange porté au bain-marie pendant quelques minutes.

Comme dans les cas précédents, nous avons essayé la dissociation par le silicate de potassium, mais cette fois, nous avons constaté une différence ; nous avons cependant opéré dans les conditions mêmes qui nous avaient réussi jusqu'ici. Le silicate de potassium ne respecte pas l'acide silicotungstique et, au moment où l'on acidifie par l'acide chlorhydrique en vue du dosage colorimétrique on constate l'appari-

tion d'un précipité et l'addition de chlorure titaneux ne développe pas la coloration bleu-noir attendue mais une coloration bleu-vif.

Dans le cas de la caféine il nous est donc impossible de faire le dosage colorimétrique des constituants du silicotungstate.

Nous n'avons pu effectuer que la première partie du dosage colorimétrique, c'est-à-dire la technique MASCRÉ-LOISEAU. Voici les résultats obtenus (cuve de 12,5 mm.) :

	Lectures	A.S.T. dans 100 cc.	A.S.T. dans 20 cc.
Témoin	0,807	0,561 gr.	0,1122 gr.
(1)	0,520	0,345 gr.	0,069 gr.

La différence entre 0,1122 et 0,069 donne 0,0432. En utilisant le coefficient habituellement admis : 0,2236, on transforme en caféine : $0,0432 \times 0,2236 = 0,00966$. La quantité de caféine mise en réaction étant de 0,010, le résultat trouvé semble assez satisfaisant. Nous avons fait de nombreux dosages par la méthode MASCRÉ-LOISEAU : les résultats obtenus sont constants et toujours comparables entre eux. Ils présentent beaucoup moins de difficultés que les dosages pondéraux, quant au lavage.

Des résultats colorimétriques nous ont permis de conclure que le coefficient à adopter est 0,2236 correspondant à un précipité contenant 3 molécules de caféine hydratée à 1 OH_2 pour une molécule d'acide silicotungstique. C'est d'ailleurs la formule adoptée par BERTRAND, puis par BONN et DESGREZ et ensuite par HEIDUSCHKA et WOLF.

QUININE

Nous avons essayé la même expérience sur le silicotungstate de quinine. Nous avons opéré sur une solution de chlorhydrate basique de quinine Codex à 0,50 % correspondant à 0,403 gr. % de quinine base.

Essai de dosages simultanés par les méthodes MASCRÉ-LOISEAU et ROJAHN-SEIFERT.

Comme dans le cas de la caféine nous n'avons pu obtenir ici, par le silicate de potassium, de décomposition respectant l'acide silicotungstique. La partie aqueuse renfermant l'acide silicotungstique et privée de quinine précipite par l'acide chlorhydrique et ne conduit pas à la coloration bleu-noir, mais à une coloration bleu-vif par addition de chlorure titaneux.

Il est assez curieux de constater que dans le cas de la strychnine, de la cocaïne, de l'hydrastine, de la brucine, nous ayons pu décomposer le silicotungstate par le silicate de potassium et retrouver ainsi de l'acide silicotungstique ayant gardé ses principaux caractères et que nous n'ayons pu réussir la même opération avec la caféine et la quinine par exemple.

Ces expériences montrent qu'aux dosages des silicotungstates par la technique de ROJAHN et SEIFERT, il est préférable de substituer le dosage de l'excès d'acide par la méthode MASCRÉ-LOISEAU parce que avec certains alcaloïdes la régénération de l'acide silicotungstique se fait mal.

En ce qui concerne cette dernière, nous avons vu qu'elle donne toujours un accord satisfaisant avec la méthode pondérale. Si l'on détermine colorimétriquement les coefficients expérimentaux, on constate qu'en règle générale ils sont un peu différents des coefficients déterminés par pesée. Ceux-ci sont toujours, dans la pratique, un peu supérieurs au coefficient théorique, ce qui peut s'expliquer par le fait que l'insolubilité du silicotungstate d'alcaloïde n'est pas absolue et qu'il faut en général d'assez grandes quantités de liquide pour parfaire le lavage du précipité. Le lavage par centrifugation s'effectue avec de moindres quantités de liquide et l'écart du coefficient expérimental et du coefficient théorique sera moins grand. C'est particulièrement le cas pour la caféine.

Conclusion.

Que doit-on préférer, le dosage colorimétrique ou le dosage gravimétrique ?

Il n'est pas douteux que le dosage gravimétrique donnera toujours des résultats plus précis, le dosage colorimétrique est plus rapide. Il se recommande en tout cas particulièrement toutes les fois qu'on opérera sur de très petites quantités d'alcaloïde, parce qu'alors les pertes au lavage se multiplient, et pour les dosages en série.

DEUXIEME PARTIE

*APPLICATION A QUELQUES DROGUES
ET PREPARATIONS GALÉNIQUES*

Nous avons fait l'application des dosages d'alcaloïdes par l'acide silicotungstique à un certain nombre de drogues et de préparations galéniques, en comparant, ici encore la méthose pondérale et la méthode colorimétrique.

Nous avons ensuite comparé les résultats ainsi obtenus à ceux fournis par les autres méthodes en usage, en particulier par celles que le Codex a adoptées.

Dans la plupart des cas, les résultats se sont montrés comparables, avec des avantages marqués pour l'une ou l'autre des techniques.

Dans quelques cas particuliers, nous avons rencontré des difficultés qui nous ont conduit à une étude un peu plus poussée. Ce fut le cas de la Belladone et celui de la Coca.

Pour chacun des cas nous n'avons rapporté en général qu'un essai. En réalité les essais ont été répétés sur chaque fois deux ou plusieurs échantillons.

ACONIT

Etant donné que le dosage des préparations d'Aconit, d'après le Codex, se fait à l'état de silicotungstate, nous avons commencé par étudier cette drogue.

Nous avons utilisé la méthode MASCRÉ-LOISEAU avec succès. Il nous a fallu toutefois modifier un peu l'extraction des alcaloïdes prescrite par le Codex, qui fait effectuer la précipitation des alcaloïdes par l'acide silicotungstique en milieu nitrique. Or il nous est impossible de faire les dosages colorimétriques en milieu nitrique. Il nous a semblé utile de vérifier que les résultats étaient identiques en opérant la précipitation en milieu nitrique et en milieu chlorhydrique.

Pour cela, une prise d'essai de 20 gr. d'extrait est dissoute dans 100 cc. d'eau distillée et la solution additionnée d'ammoniaque est épuisée par 300 cc. d'éther employés en 3 fois. L'éther est recueilli, filtré sur sulfate de sodium desséché et divisé en 2 parties égales qui correspondent chacune à 10 gr. d'extrait.

L'une est épuisée par 10 cc. d'acide nitrique à 20 %, l'autre par 10 cc. de ClH à 20 %.

Chaque dissolution est lavée 3 fois avec 10 cc. d'eau distillée. L'éther est chassé des solutions acides par l'action du vide et on complète le volume à 50 cc. qui correspondent à 10 gr. d'extrait. Dans deux vases à précipitation chaude on mesure :

25 cc. de solution acide

15 cc. d'acide silicotungstique à 5 %

à la solution nitrique on ajoute 20 cc. d'acide nitrique à 1/10

à la solution chlorhydrique, on ajoute 20 cc. de ClH à 1/10

on porte à l'ébullition.

Après un repos de 24 heures, on recueille par filtration, on lave, sèche, calcine et pèse.

Les résultats de pesée sont les suivants :

en milieu chlorhydrique. 0,0702 gr.

en milieu nitrique..... 0,0689 gr.

en utilisant le coefficient 0,793 fixé par le Codex, on trouve :

en milieu chlorhydrique. 1,113 % d'alcaloïdes totaux,

en milieu nitrique..... 1,093 % d'alcaloïdes totaux.

On peut donc faire le dosage indifféremment en milieu nitrique ou en milieu chlorhydrique.

Nous remarquons ici, une fois de plus, que le titre de l'extrait examiné correspond tout à fait au titre exigé par le Codex, bien que le dosage ait été pratiqué sur un très vieil extrait ayant perdu vraisemblablement une grande partie de son action physiologique. C'est un fait souvent constaté et qui montre l'insuffisance du dosage chimique dans le cas de l'extrait d'Aconit.

Cette expérience permet de faire le dosage colorimétrique dans les conditions habituelles : comme nous l'avons dit plus haut, il ne peut se faire en milieu très oxydant qui oxyderait le chlorure titaneux.

Nous avons opéré sur une solution chlorhydrique préparée pour l'essai pondéral et nous avons mélangé 2 cc. de solution acide correspondant à 0,40 gr. d'extrait et 2 cc. d'acide silicotungstique à 5 %. Nous avons chauffé, laissé reposer, et au moyen de 2 lavages, amené le volume à 20 cc.

Les lectures ont été faites en cuve de 2,5 mm. sur une prise d'essai de 5 cc. de solution additionnée de 0,5 cc. de la solution de chlorure titaneux.

	Lectures	A.S.T. %	A.S.T. dans 20 cc.
Témoin	0,677	0,401 gr.	0,080 gr.
Essai	0,635	0,374 gr.	0,0748 gr.
	$0,0802 - 0,0748 = 0,054 \text{ gr.}$		

$$\frac{0,054 \times 0,793 \times 100}{0,40} = 1,07 \%$$

Le résultat pondéral était de 1,10 ; ce qui donne une erreur relative de :

$$\frac{1,10 - 1,07}{1,10} = - 2 \%$$

Comme cela semblait logique, après les observations précédentes qui avaient consigné la concordance constante entre les dosages colorimétriques et les dosages pondéraux, on peut effectuer le dosage des alcaloïdes de l'Aconit avec une bonne approximation par la méthode colorimétrique de MASCRÉ-LOISEAU.

QUINQUINA

Nos essais ont porté sur des extraits de Quinquina que nous avons traités par la méthode du Codex de 1937 et parallèlement par précipitation silicotungstique.

Voici un exemple :

6 gr. d'extrait fluide ont été pesés et transvasés dans un flacon bouché émeri de 250 cc. Ils ont été additionnés de 60 cc. d'éther et de 30 cc. de chloroforme puis de lessive de soude. Après 10 min. d'agitation, nouvelle addition de 60 cc. d'éther qui amène le volume total à : 150 cc. correspondant à 6 gr. d'extrait d'où :

$$10 \text{ cc.} = 0,40 \text{ gr. d'extrait.}$$

Nous avons divisé l'éther-chloroforme en plusieurs parts :

A) 50 cc. correspondant à 2 gr. d'extrait ont été évaporés à sec. Le résidu repris par quelques cc. d'alcool est additionné d'acide N/10, en présence de rouge de méthyle, jusqu'à virage au rouge de cet indicateur. Après addition d'eau distillée bouillie, on ajoute à nouveau

Q. S. d'acide N/10 pour faire virer finalement le rouge de méthyle. Nous avons employé 1,6 cc. d'acide ce qui correspond à :

0,0309 gr. $\times$ 1,6 = 0,04944 gr. ; pour la prise d'essai de 2 gr., soit :

$$\frac{0,04944 \times 100}{2} = 2,47 \text{ gr. pour } 100 \text{ gr.}$$

Après acidification par ClH (Q. S. 1 %) ce résidu de neutralisation a été additionné de Q. S. d'acide silicotungstique pour assurer la précipitation.

Après repos, le précipité a été recueilli dans les conditions habituelles, lavé à fond, séché, calciné et pesé.

Nous avons pesé 0,2080 gr. de résidu de calcination, ce qui conduit à :

$$\begin{aligned} 0,2080 \times 0,22 &= 0,04576 \text{ gr.} \\ \frac{0,04576 \times 100}{2} &= 2,29 \text{ gr. } \% \end{aligned}$$

B) D'autre part 50 cc. de l'épuisement éthéro-chloroformique du début ont été placés dans une ampoule à décantation et épuisés par 10 cc. de ClH à 3 % à 3 reprises.

Les solutions chlorhydriques diluées pour ramener l'acidité en ClH à 1 % ont été additionnées d'acide silicotungstique et le dosage poursuivi comme ci-dessus.

La pesée effectuée a été de 0,2106 gr., résultat qui évalué en quinine donne : $0,2106 \times 0,22 = 0,04633$ gr., soit 2,32 gr. %, c'est-à-dire pratiquement le même résultat que celui trouvé dans l'essai précédent.

En vue d'appliquer la méthode MASCRÉ-LOISEAU, 10 cc. de la solution éthéro-chloroformique primitive ont été additionnés de 2 cc. d'acide silicotungstique et le dosage poursuivi dans les conditions habituelles.

Les lectures ont été les suivantes (cuve de 2,5 mm.) :

	Lectures	A.S.T. %
Témoin	0,690	0,475 gr.
Essai	0,410	0,263 gr.

acide silicotungstique précipité % : $0,475 - 0,263 = 0,212$

0,212

Dans 20 cc. il y a : $\longrightarrow = 0,0424 \text{ gr.}$

En quinine : $0,0424 \text{ gr.} \times 0,22 = 0,009328$ qui sont contenus dans 0,40 gr. d'extrait, ce qui donne pour 100 grammes : 2,33 gr.

En conclusion : il existe un accord complet entre les dosages silicotungstiques pondéraux et colorimétriques.

D'autre part, remarquons qu'on peut opérer indifféremment sur le résidu de neutralisation du dosage Codex ou bien sur un épuisement acide de la liqueur éthéro-chloroformique. Les résultats sont tout à fait les mêmes. Cette constatation est intéressante car, nous verrons, en particulier, à propos de la Belladone, que le même accord ne peut pas toujours être réalisé.

En considérant les chiffres donnés comme résultats, nous constatons une différence sensible entre les dosages Codex et les autres : 2,47 gr. % et 2,31 gr. %. Il nous semble devoir faire observer ici que l'emploi de 1/10 de cc. d'acide N/10 en moins au moment de la neutralisation finale dans le dosage Codex aurait modifié les résultats comme suit :

$$0,0309 \times 1,5 = 0,04635$$

soit pour cent : 2,31 gr.

c'est-à-dire exactement le chiffre trouvé par l'acide silicotungstique.

Nous voyons ainsi que l'emploi d'une goutte d'acide en plus ou en moins modifie assez nettement les résultats, ce qui diminue évidemment la précision. C'est là un inconvénient que ne présente pas l'acide silicotungstique.

KOLA

Les essais pratiqués sur le Quinquina, l'ont été également sur des préparations de Kola, en vue du dosage de la caféine.

Voici un exemple :

6 grammes d'extrait ferme de Kola ont été délayés à chaud dans quelques cc. d'eau distillée.

L'extrait ainsi ramolli a été trituré au mortier avec de la magnésie calcinée jusqu'à obtention d'une masse pulvérulente à peine humide.

Après un temps de contact de une heure ou deux, cette poudre a été épuisée par 300 gr. de chloroforme à chaud ; en maintenant le réfrigérant à reflux pendant deux heures.

L'épuisement terminé, le ballon contenant la poudre et le chloroforme a été refroidi et le poids initial rétabli, en cas de besoin, par addition de Q. S. de chloroforme.

La solution ainsi obtenue, contenant la caféine de l'extrait est telle que 300 gr. de chloroforme correspondent à 6 gr. d'extrait.

A) Dosage Codex.

Sur une partie de la solution chloroformique, nous avons effectué le dosage Codex, c'est-à-dire que nous avons simplement évaporé 150 gr. de chloroforme correspondant à 3 gr. d'extrait et que nous avons pesé le résidu après un séjour convenable à l'étuve à 100°. Nous avons obtenu un résidu d'évaporation de : 0,1706 gr. ce qui donne une teneur pour 100 gr. d'extrait de 5,69 gr.

B) Précipitation par l'acide silicotungstique.

Ici il est impossible d'opérer comme nous l'avons fait pour la quinine, c'est-à-dire d'épuiser la solution chloroformique par un acide pour récupérer l'alcaloïde et ensuite opérer la précipitation silicotungstique. Il est très difficile de faire passer la caféine à l'état de chlorhydrate à partir d'une solution chloroformique. La caféine reste dans le chloroforme.

Pour opérer la précipitation par l'acide silicotungstique, il faut évaporer à sec, reprendre le résidu de caféine par quelques cc. d'eau chlorhydrique à chaud.

Dans ce but, 100 gr. de la solution chloroformique du début ont été évaporés. Le résidu a été dissous dans quelques cc. d'eau chlorhydrique à chaud. Après dilution et acidification convenable (3 % ClH) la solution a été additionnée de 15 cc. d'acide silicotungstique à chaud.

Après repos, il a été procédé aux lavages, en faisant ici les restrictions déjà formulées dans la première partie de ce travail, qui signalaient la difficulté d'apprécier la fin du lavage. Sécher, peser.

Dans l'exemple choisi, la pesée a été de : 0,4938 gr., soit en caféine :

$$\begin{aligned} 0,4938 \times 0,2236 &= 0,111 \\ \text{et pour 100 : } \frac{0,111 \times 100}{2} &= 5,55 \text{ gr.} \end{aligned}$$

Parallèlement, nous avons effectué un dosage colorimétrique selon la technique habituellement suivie par nous.

A cet effet, 10 gr. de chloroforme ont été évaporés dans un tube à centrifuger et le résidu dissous à chaud dans 2 cc. d'eau chlorhydrique a été additionné de 2 cc. de solution d'acide silicotungstique.

La liqueur surnageante et les eaux de lavage ont été réunies et amenées au volume total de 20 cc. Un prélèvement de 5 cc. a été additionné de 0,5 cc. de solution de chlorure titaneux et la coloration obtenue appréciée comme toujours en cuve de 2,5 mm. Les lectures ont été les suivantes :

	Lectures	A.S.T. %
Témoin	0,805	0,560 gr.
Essai	0,472	0,309 gr.

Acide silicotungstique précipité dans 100 cc. = 0,251 gr., d'où acide silicotungstique précipité dans 20 cc. = 0,050 gr., ce qui correspond à 0,0111 de caféine ($0,050 \times 0,2236$), soit en caféine pour 100 gr. d'extrait :

$$\frac{0,0111 \times 100}{0,20} = 5,55 \text{ gr.}$$

Ici encore, nous constatons l'accord entre dosages pondéral et colorimétrique.

Remarquons toutefois une petite différence entre ces dosages et le dosage Codex, et signalons aussi que le dosage de la caféine par l'acide silicotungstique est beaucoup plus long que le dosage Codex, qu'il présente une réelle difficulté étant donné le peu de netteté qui marque la fin du lavage du silicotungstate.

Examen d'une poudre de Kola en vue de vérifier la nécessité de la purification au cours du dosage.

Le Codex fait pratiquer une purification au cours du dosage de la caféine dans la poudre de Kola. Nous nous sommes demandé si la précipitation par l'acide silicotungstique ne pourrait pas supprimer la purification.

Nous avons mis en contact 30 gr. de poudre de Kola et 20 gr. de magnésie avec 30 cc. d'eau distillée. Le mélange ainsi obtenu a été épuisé par 240 cc. de chloroforme, pendant 2 heures, dans les conditions décrites à propos de l'extrait.

8 cc. de chloroforme représentent 1 gr. de poudre. Nous en avons évaporé directement 70 cc. représentant 8,75 gr. de poudre et nous avons eu une pesée de 0,1310 gr., ce qui fait un pourcentage de 1,50 de caféine impure.

Ce résidu alcaloïdique a été redissous dans l'eau chlorhydrique (2 cc. ClH + 10 cc. d'eau distillée), selon les indications du Codex. Les alcaloïdes ont été à nouveau précipités par l'ammoniaque, redissous dans du chloroforme et ce dernier chloroforme a été évaporé et le résidu pesé. Nouveau pourcentage d'alcaloïdes, correspondant à la technique Codex : 1,35 gr.

Dans un essai parallèle, nous avons, au lieu de déplacer les alcaloïdes par l'ammoniaque, précipité tout simplement la solution chlorhydrique par un excès d'acide silicotungstique et effectué le dosage selon la technique habituellement suivie par nous. Nous avons obtenu un résidu de calcination de silicotungstate de 0,5862 gr. qui, transformé en caféine donne : $0,5862 \times 0,2236 = 0,131$ correspondant à 8,75 gr. de poudre, donc à un pourcentage de 1,50 gr. C'est le chiffre que nous avait donné un dosage sans purification. Ainsi la précipitation par l'acide silicotungstique *ne peut pas remplacer la purification.*

HYDRASTIS

Nous avons étudié l'Hydrastis dans les mêmes conditions.

Les expériences ainsi réalisées nous ont permis de conclure que le coefficient expérimental que nous avons déterminé au moyen de l'hydrastine était bien celui qui convenait pour les préparations d'hydrastis. Dans ce but, nous avons avant tout comparé sur un même épuisement étheré les deux méthodes : Codex et silicotungstique.

Nous avons pesé 75 gr. d'un extrait fluide que nous avons évaporé et repris par 40 cc. d'eau. Cette solution aqueuse transvasée dans un flacon émeri a été épuisée par un mélange de 150 cc. d'éther de pétrole, 750 cc. d'éther et 15 cc. d'ammoniaque. Après un contact de 2 heures au cours duquel le flacon a été agité fréquemment, nous avons filtré et recueilli 750 cc. de filtrant correspondant à 62,50 gr. d'extrait.

Nous avons alors traité ce filtrat dans une grande ampoule à décantation par :

	50 cc. d'acide chlorhydrique au 1/4		
puis par	25 cc.	»	»
»	20 cc.	»	»

au total un peu moins de 100 cc.

Les liqueurs acides ainsi obtenues ont été abandonnées dans le vide sulfurique pour chasser l'éther et le volume a finalement été complété à 100 cc. (solution I).

10 cc. de cette solution ont été placés dans un vase à précipitation avec 5 cc. d'acide silicotungstique et le précipité obtenu a été traité dans les conditions habituelles. En utilisant le coefficient de 0,4798 déterminé expérimentalement dans la première partie de ce travail, nous avons abouti au résultat suivant : 2,27 %. Remarquons que ce premier essai a été fait sans purification et uniquement pour s'assurer de la nécessité de celle-ci.

Une autre partie de la solution acide (solution I) a été examinée dans le but de comparer la méthode utilisée par le Codex et la méthode silicotungstique.

25 cc. de la solution I correspondant à 15,625 gr. d'extrait ont été placés dans un flacon émeri avec 125 cc. d'éther et Q. S. d'ammoniaque. Après agitation convenable, nous avons recueilli l'éther par filtration sur sulfate de sodium.

L'éther a alors servi à comparer les résultats fournis par une évaporation directe à ceux fournis par le silicotungstate.

a) Evaporation directe :

40 cc. d'éther sont placés dans un petit cristalliseur taré et évaporé à sec. Le résidu d'évaporation a été de 0,0994 gr. correspondant à 5 gr. d'extrait, ce qui fait 1,985 gr. %.

b) Méthode silicotungstique :

40 autres cc. d'éther ont été placés dans une ampoule à décantation et épuisés par de l'acide chlorhydrique à 3 %.

La solution chlorhydrique ainsi obtenue, privée d'éther par évaporation dans le vide sulfurique a été additionnée d'acide silicotungstique pour en assurer la précipitation. Le précipité formé a été traité dans les conditions habituelles et le résidu de calcination a été de 0,2074 gr. qui multiplié par 0,4798 donne 0,09951, résultat correspondant à 5 gr. d'extrait. Le résultat final est donc de 1,99 %. Le résultat Codex étant de 1,985 gr. Nous constatons un accord tout à fait satisfaisant, ce qui confirme que le coefficient de transformation convient parfaitement pour le dosage des alcaloïdes de l'*Hydnastis*.

Cette expérience montre aussi la nécessité de la purification prescrite par le Codex puisque le résultat conforme au chiffre de la mé-

thode Codex est de 1,99 % alors que nous avons trouvé directement 2,27 %.

Il nous reste à comparer ces chiffres à celui donné par la méthode colorimétrique.

Colorimétrie. — Pour cela 10 cc. d'éther ont été placés dans un tube à centrifuger et évaporés. Ils correspondent : à 1,25 gr. d'extrait. Le résidu d'évaporation a été dissous dans 5 cc. d'eau chlorhydrique à 3 % et additionné de 2 cc. de solution d'acide silicotungstique à 5 %.

Le dosage a été poursuivi dans les conditions habituelles en amenant au volume final de 20 cc. 5 cc. ont été prélevés sur les 20 cc. ainsi obtenus et sur la fiole étalon préparée comme toujours. Chacun de ces prélèvements a été additionné de 0,5 cc. de chlorure titaneux. La coloration développée a été appréciée au photomètre de PULFRICH et en cuve de 2,5 mm.

Les résultats ont été les suivants :

	Lectures	Ac. S. T. %
Témoin	0,745	0,515 gr.
Essai	0,400	0,255 gr.

la différence pour 100 est de 0,260 gr., ce qui correspond à une différence de 0,052 dans 20 cc. (prise d'essai).

0,052 d'anhydride silicotungstique correspondent à :

$$0,052 \times 0,4798 = 0,0248 \text{ gr. d'hydrastine}$$

soit à 1,98 gr. dans 100 gr. d'extrait.

Une fois encore ces dosages donnent les mêmes résultats que les dosages pondéraux selon la méthode de BERTRAND. Ils coïncident bien avec les dosages selon la méthode du Codex, mais ils ne présentent sur eux aucun avantage, étant évidemment plus longs. Notons toutefois qu'ils se font très facilement, le silicotungstate se rassemblant bien et les lavages ne présentant aucune difficulté spéciale.

Il nous semble utile de noter ici la nécessité de prolonger suffisamment le contact de l'extrait à doser et des solvants en milieu alcalin, et surtout d'agiter fréquemment le flacon dans lequel se fait l'épuisement. Nous avons en effet observé qu'il est assez difficile de faire passer la totalité des alcaloïdes en solution à ce moment.

COCA

Nous avons voulu, à propos de la Coca, faire la même série d'expériences : comparer la méthode du Codex, et les méthodes faisant appel à l'acide silicotungstique.

Nous basant sur les travaux antérieurs de GORIS, nous avons voulu comparer les résultats donnés par la méthode de la Pharmacopée Belge à ceux fournis par le Codex français et par le silicotungstate.

Rappelons rapidement les principes des dosages que nous avons pu relever dans les Pharmacopées : française, belge, suisse, espagnole, mexicaine.

1°) Codex 1937 ;

Principe : pesée des alcaloïdes extraits par l'éther et purification par passage à l'état de chlorhydrate ou de sulfate.

Mode opératoire :

Le mode opératoire est un peu différent selon que l'on s'adresse à la poudre ou à l'extrait fluide.

A) dosage de la poudre

Une prise d'essai de 25 gr., additionnée de 60 cc. d'eau distillée et de 10 cc. d'ammoniaque est épuisé par 200 cc. d'éther en maintenant le mélange à une température de 0° pendant 1/2 heure.

Purification : après repos, 100 cc. d'éther correspondant à 12,50 gr. de poudre sont épuisés par l'acide chlorhydrique à 0,50 % à 3 reprises. On vérifie que l'épuisement est complet en faisant un quatrième épuisement chlorhydrique qui ne doit pas précipiter par l'iodomercurate de potassium.

On réunit les solutions acides dans une ampoule à décantation, alcalinise par l'ammoniaque et épuise alors la solution alcaline par 40 cc., puis 20 cc. et 3 fois 10 cc. d'éther.

On réunit les solutions éthérées dans une fiole tarée, distille l'éther à basse température, ajoute à deux reprises 3 cc. d'éther que l'on évapore après chaque addition. On porte la fiole renfermant le résidu sous une cloche à vide contenant de l'anhydride phosphorique. On dessèche le résidu jusqu'à poids constant.

B) dosage de l'extrait fluide

On verse dans une ampoule à décantation 10 gr. d'extrait fluide, on ajoute 25 cc. d'éther, 7,5 cc. d'eau et 3 cc. d'ammoniaque. On agite 2 minutes, laisse reposer et décante la couche aqueuse que l'on épuise à nouveau par 2 fois 20 cc. d'éther.

On réunit les solutions correspondant à la totalité de la prise d'essai.

Purification : aux liqueurs éthérées réunies, on ajoute 5 cc. de solution normale d'acide sulfurique et 5 cc. d'eau et on agite vigoureusement pendant 2 minutes. On fait deux autres épuisements par 1 cc. d'acide sulfurique normal et 9 cc. d'eau distillée.

Les solutions acides réunies sont alcalinisées par l'ammoniaque et agitées pendant 2 minutes avec 20 cc. d'éther.

On procède ensuite à 3 nouveaux épuisements avec 15 cc. d'éther à chaque fois.

Les liqueurs éthérées sont réunies et évaporées à basse température puis dans le vide en présence d'une substance desséchante jusqu'à poids constant.

Dans le cas de l'extrait fluide, le Codex ne précise pas la température à laquelle doit se faire l'épuisement. Les durées de contact sont différentes de celles prescrites pour la drogue.

La purification se fait à l'état de chlorhydrate pour la drogue et à l'état de sulfate pour l'extrait fluide.

2°) Pharmacopée belge (4^e édition, 1930, p. 193 à 195)

Dans les deux cas, l'évaporation finale se fait à basse température, puis dans le vide en présence d'une substance desséchante.

12 gr. de poudre de Coca sont introduits dans une fiole avec 120 gr. d'éther, on agite vigoureusement et on ajoute 5 cc. d'ammoniaque à 17 % et 3 cc. d'eau. On laisse en contact une heure en agitant de temps en temps.

On décante sur un coton hydrophile la plus grande partie de la solution éthérée ; pour clarifier on ajoute 5 cc. d'eau, 1,25 gr. de talc et on agite ; on décante sur un filtre sec et couvert ; puis on prélève 80 gr. de la solution éthérée.

On distille complètement l'éther. Le résidu est dissous dans 25 cc. d'éther pur employé en 4 fois et on réunit les solutions éthérées dans une ampoule à décantation.

On ajoute 40 cc. de solution centinormale de ClH , on agite 5 min. Après séparation des liquides, on recueille la solution acide en la passant sur un filtre mouillé ; on termine le lavage de la solution étherée avec trois fois 10 cc. d'eau et finalement on lave le filtre avec 5 cc. d'eau.

On titre l'excès d'acide par une solution N/100 de soude en présence de II gouttes de rouge de méthyle (solution à 2 pour mille):

Notons immédiatement que la grosse différence qui existe entre les dosages des Pharmacopées française et belge est l'absence de purification dans le procédé belge.

GORIS et CHALMETA [16] ont montré toute l'importance de ce manque de purification et signalé que les résultats notablement plus élevés obtenus par le procédé belge étaient dus à ce manque de purification.

3°) Pharmacopée suisse (Pharmacopoea-Helvetica. 5^e édition 1934, p. 341-342 et 423-424).

12 gr. de coca sont placés dans un flacon avec 120 gr. d'éther.

GORIS fait remarquer que ce procédé s'inspire de la méthode de KELLER [28] et que c'est par erreur que la Pharmacopée suisse indique 120 cc. au lieu de 120 gr.

On laisse en contact 10 minutes, on agite fréquemment. On ajoute 5 cc. de NH_3 à 10 % et 5 cc. d'eau et on laisse en contact une demi-heure en agitant vigoureusement.

Après un repos suffisant, on décante 80 gr. sur du coton hydrophile, on épuise alors par 30 cc. de ClH à 0,50 %, puis à 3 reprises et même plus s'il le faut par 10 cc. du même acide jusqu'à ce que quelques gouttes de la solution acide ne précipitent plus par le réactif de MAYER.

Les solutions acides filtrées sont réunies dans un entonnoir à décantation, alcalinisées par l'ammoniaque et épuisées par 40, puis 20 et plusieurs fois 10 cc. d'éther.

Les solutions étherées, après filtration sur coton dégraissé, sont réunies dans un matras taré, on distille l'éther et, ce dernier évaporé, on ajoute à deux reprises 5 cc. d'éther que l'on évapore chaque fois. On sèche le résidu à 100° jusqu'à poids constant.

**4°) Pharmacopée espagnole (Farmacopea oficial Espanola
8^e édition, 1930, p. 232-234).**

Ce procédé est celui indiqué par DE JONG [10] ; c'est également un dosage gravimétrique dont le principe est identique à celui de la Pharmacopée suisse.

Il se distingue en ce que la prise d'essai de la poudre de Coca est de 25 gr. On ajoute 200 cc. d'éther et 10 cc. de solution d'ammoniaque concentrée et 60 cc. d'eau à 0°. On laisse en contact une demi-heure et on prélève 100 cc. d'éther ; mais toutes ces opérations doivent se faire à 0°. Enfin la pesée des alcaloïdes se fait après évaporation au B.M. et dessiccation sur l'acide sulfurique.

5°) Pharmacopée mexicaine (5^e édition 1925, p. 1132-1133).

10 gr. de poudre sont épuisés par lixiviation avec de l'alcool à 50°. La solution alcoolique est évaporée jusqu'à obtention d'un petit volume (10 cc. par exemple). On ajoute 25 cc. d'éther, 2 cc. d'ammoniaque et on agite 2 minutes. On laisse reposer et on sépare la couche aqueuse que l'on agite à deux reprises avec de l'éther. Les solutions éthérées réunies sont alors agitées pendant une ou deux minutes avec 5 cc. d'acide sulfurique normal et 5 cc. d'eau. On répète les lavages deux fois avec 9 cc. d'eau et 1 cc. d'acide sulfurique normal.

Les solutions sulfuriques réunies sont additionnées de 20 cc. d'éther et d'ammoniaque jusqu'à alcalinité au tournesol et sont agitées de une à trois minutes. On décante l'éther et on continue l'épuisement par des lavages de la solution aqueuse avec 2 ou 3 fois 15 cc. d'éther, on évapore la solution éthérée au B.M. jusqu'à poids constant.

GORIS et CHALMETA [16] ont comparé ces diverses techniques et ils sont arrivés aux conclusions suivantes :

« Les procédés espagnol, suisse et mexicain donnent des résultats comparables. Les chiffres un peu trop forts fournis par la méthode suisse proviennent de ce que, pendant la filtration, la solution éthérée s'est légèrement concentrée.

La grande différence qui existe entre les résultats fournis par le procédé belge et les autres, n'est pas sans nous avoir surpris, disent les auteurs. Cette différence s'est toujours montrée aussi considérable, d'une façon constante, sur les nombreux dosages effectués sur la même poudre et sur d'autres échantillons. »

« On peut montrer que cette différence est due à la non purification des alcaloïdes. Il est bien démontré que la méthode de dosage sans purification de la Pharmacopée belge peut donner des résultats doubles de ceux des autres méthodes dans lesquelles la purification des alcaloïdes est effectuée. »

Les auteurs ont voulu déterminer la nature des corps qui pouvaient ainsi intervenir pour fausser le dosage ; ils ont conclu que, lors de l'épuisement de la solution éthérée par ClH N/100, cet acide sature les bases cocaïniques et décompose une combinaison d'acides gras avec NH₃ ou une base aminée. La trop petite quantité de produit n'a pas permis aux auteurs de caractériser cette base.

Ils concluent que la méthode la plus précise paraît être celle de DE JONG adoptée par la Pharmacopée espagnole.

Tableau comparatif

	Ph. espagnole DE JONG GORIS	Codex Fr. poudre	Codex Fr. extrait	Ph. belge poudre
Prise d'essai.	25 gr.	25 gr.	10 gr.	12 gr.
Ether	200 gr.	200 cc.	25 cc. + 2 fois 20 cc. total : 65 cc.	120 gr.
Eau	60 gr.	60 cc.	7,5	3 cc.
Ammoniaque.	10 cc.	10 cc.	3 cc.	5 cc.
Température.	0°	0°	?	?
Durée	1/2 heure	1/2 heure	2 minutes	1 heure
Purification .	100 gr. d'éther = 12,50 gr. de poudre	100 cc. d'éther = 12,50 gr. de poudre	totalité = 10 gr.	0
Acide	ClH à 0,50 % 30 cc. + 3 fois 20 cc.	ClH à 0,50 %	SO ⁴ H ² N 5 cc. + 1 cc. + 1 cc.	
Ether	50 cc. + plusieurs fois 20 cc.	40 cc. 20 cc. 10 cc. 10 cc. 10 cc. pour 12,50 gr. de poudre	20 cc. 15 cc. 15 cc. 15 cc. = 65 cc. pour 10 gr. d'extrait	
Dosages par pesée			volumétrie	

Les conclusions de GORIS et CHALMÊTA permettent de ramener les diverses techniques à deux : d'une part le procédé belge, qui donne des résultats beaucoup trop élevés et le groupe des procédés : suisse, espagnol, mexicain, dont le Codex s'est inspiré et qui donnent tous le même résultat.

Le Codex adopte les proportions de réactifs de la Pharmacopée mexicaine adaptées à la technique espagnole.

Nous avons essayé de titrer la Coca au moyen de l'acide silicotungstique et nous avons comparé les résultats obtenus à ceux des Pharmacopées française et belge.

Les dosages d'alcaloïdes de la Coca ont été faits selon la technique que nous avons indiquée à propos de la cocaïne ; nous inspirant de la méthode de VALETTE, mais terminant, comme dans les autres cas, par calcination du résidu. Rappelons que la précipitation doit être faite à froid, en solution contenant 3 % de ClH officinal. Dans ces conditions, le silicotungstate correspond à la formule générale de BERTRAND : SiO_2 , 12 WO_3 , 4 alcaloïdes et le coefficient à utiliser est 0,4261.

Pour pouvoir comparer les résultats, nous avons déplacé les alcaloïdes d'une quantité suffisante de drogue pour pouvoir faire tous les dosages sur le même éther.

Voici un premier essai pratiqué sur une poudre assez ancienne (poudre de la pharmacie de l'hôpital Saint-Antoine).

Pour nous placer dans les meilleures conditions possibles, nous avons épuisé une quantité assez importante de poudre, ce qui nous a permis de faire tous les dosages sur l'éther provenant de cet épuisement initial.

Nous avons donc épuisé 75 gr. de poudre par l'éther, en respectant les proportions prescrites par le Codex.

Nous avons placé ces 75 gr. de poudre dans un grand flacon bouchant à l'émeri avec 600 cc. d'éther, 30 cc. d'ammoniaque et 180 cc. d'eau. Nous avons mis le flacon à la glacière à 0° pendant une demi-heure en agitant de temps en temps.

Après repos, nous avons décanté et recueilli l'éther, dont 100 cc. correspondent à 12,50 gr. de poudre selon les indications du Codex. Nous avons tout d'abord pratiqué l'essai le plus simple qui consiste à évaporer dans le vide une partie de l'éther et à examiner le résidu. Nous avons ainsi évaporé 40 cc. correspondant à 5 gr. de poudre.

Une telle pesée ne donne évidemment pas de résultats intéressants, mais le résidu ainsi obtenu a été repris par 50 cc. d'acide sulfurique N/100 et l'excès d'acide dosé par la soude N/100. Nous avons utilisé 36,82 cc. de soude, ce qui fait une consommation d'acide de 13,18 cc., soit en cocaïne : $0,00303 \times 13,18 = 0,0399$ gr. pour 5 gr. de poudre et 0,798 gr. pour cent.

La liqueur ainsi neutralisée a été additionnée d'une quantité de

solution d'acide silicotungstique suffisante pour en assurer la précipitation totale. L'acidité a été amenée à 3 % de ClH et le tout abandonné au repos. Le précipité a été ensuite recueilli, lavé, séché, calciné et pesé. Le résultat de la pesée a été de 0,0927 gr. ce qui conduit à une teneur en alcaloïdes exprimés en cocaïne de 0,790 gr. pour cent, c'est-à-dire tout à fait les résultats volumétriques précédents.

Ce sont là des résultats de dosages effectués sans purification.

Nous avons ensuite procédé à un épuisement de l'éther initial par une solution acide dans le but de purifier et d'effectuer les dosages selon les prescriptions du Codex.

Sur un prélèvement de 240 cc. d'éther correspondant à 30 gr. de poudre, nous avons procédé à l'épuisement par ClH à 0,50 % à 3 reprises avec un peu moins de 50 cc. à chaque fois, et, après avoir vérifié que l'épuisement avait été complet au moyen d'une goutte d'acide silicotungstique ajoutée à un quatrième épuisement, nous avons amené le volume à 150 cc. et divisé la solution en 2 parties :

a) 100 cc. sont placés dans une ampoule à décantation, additionnés de NH_3 et d'éther en respectant toujours les proportions fixées par le Codex : 80, 40 et 3 fois 20 cc.

L'éther ainsi obtenu a été ensuite divisé en 2 parties :

1.) Une moitié a été évaporée à basse température dans une fiole tarée et cette fiole portée sous une cloche à vide contenant de l'anhydride phosphorique. Le résidu ainsi desséché jusqu'à poids constant a été de 0,0677 gr., ce qui fait une teneur de 0,677 gr. pour cent grammes de poudre.

2.) L'autre moitié de l'éther a été épuisée par ClH à 0,50 % à 3 reprises et précipitée par l'acide silicotungstique dans les conditions décrites plus haut. La pesée du résidu de calcination a été de 0,1626 gr., qui, multiplié par 0,4261, donne 0,0692 gr., soit 0,692 gr. pour cent.

La différence entre les deux résultats n'est pas très importante, toutefois la précipitation du résidu d'évaporation Codex redissous dans quelques cc. d'eau chlorhydrique à 3 %, conduit au résultat Codex : 0,67. Cette observation confirme la valeur du coefficient utilisé pour transformer le silicotungstate en cocaïne et elle pose un problème : la disparition d'une petite quantité d'alcaloïde en exécutant le procédé Codex (quantité très faible dans le cas que nous examinons).

Nous avons d'autre part exécuté le procédé belge sur 40 cc. d'éther correspondant à 5 gr. de poudre. Cet éther a été distillé et le résidu

repris par l'éther : 40 cc. en 3 fois, et transvasé dans une ampoule à décantation. Nous avons agité avec 50 cc. d'acide sulfurique N/100 dont nous avons déterminé l'excès au moyen de soude N/100. Il a été consommé 11,95 cc. d'acide N/100, ce qui fait en multipliant par 0,00305 et en rapportant à 100 grammes de poudre 0.73 %.

Cette liqueur ainsi neutralisée a été traitée par l'acide silicotungstique après acidification dans les conditions habituelles. Une pesée du résidu de calcination de 0,0870 gr. conduit à un résultat pour cent de : 0,74.

Comme il fallait s'y attendre d'après les conclusions de GORIS et CHALMETA, nous trouvons ici un résultat beaucoup plus élevé que par la méthode Codex. Ce résultat est obtenu sans purification. Il est malgré tout très inférieur à celui que nous avons obtenu directement, sans évaporation, par l'acide silicotungstique. Là encore quelque chose a échappé au dosage.

Les quantités d'éther à utiliser lors de la reprise après purification sont fixées avec beaucoup de précisions par le Codex alors que la méthode de DE JONG suivie par GORIS reste davantage dans le vague : 40, puis 20, puis plusieurs fois 10 cc. Le Codex fixe 40, 20 et 3 fois 10 cc.

Nous avons voulu voir ce qui se passait quand on poursuivait les reprises par plusieurs fois 10 cc. d'éther, ce plusieurs étant supérieur à 3.

Pour cela, nous avons préparé un dosage de poudre de Coca sur une quantité double de celle prescrite par le Codex, c'est-à-dire sur 25 gr. que nous avons traités à 0° pendant une demi-heure par 200 cc. d'éther, 50 cc. d'eau et 10 cc. d'ammoniaque.

Nous avons recueilli 100 cc. d'éther correspondant à 12.50 gr. de poudre et les avons agités avec de l'eau chlorhydrique à 0,50 % comme le prescrit le Codex.

Nous avons alors épuisé la solution chlorhydrique par 40, 20 et 3 fois 10 cc. d'éther. Ces éthers évaporés dans le vide conduisent au résultat Codex 0,67 %.

Mais arrivée à ce point, nous avons voulu nous assurer que les épuisements étaient complets, en en faisant un supplémentaire. Nous avons constaté que 2 ou 3 cc. de ce nouvel épuisement agités avec 1 ou 2 cc. d'eau chlorhydrique cèdent à l'eau chlorhydrique quelque chose qui précipite par l'acide silicotungstique.

Nous avons donc poursuivi les épuisements jusqu'à ce que l'éther n'entraînât plus rien qui, passant à l'état de chlorhydrate, précipite

par l'acide silicotungstique. Il nous a fallu pour obtenir ce résultat faire 5 épuisements supplémentaires.

A ce moment la solution aqueuse ayant contenu les alcaloïdes et qui ne cède plus à l'éther rien qui soit précipitable par l'acide silicotungstique, précipite encore elle-même par cet acide. Nous avons voulu évaluer l'importance de ce reste. Pour cela, après avoir chassé par l'action du vide l'éther dissous, nous avons précipité totalement la solution par l'acide silicotungstique. Nous avons recueilli le précipité, l'avons lavé, séché, calciné et pesé. Nous avons ainsi fait une pesée de 0,0403 gr. qui, multipliée par 0,4261, donne 0,01717, soit 0,13 %.

D'autre part, l'éther provenant des épuisements supplémentaires a été divisé en 2 parties :

a) l'une a été évaporée dans le vide comme lors d'un dosage Codex, ce qui conduit à un résultat de 0,026 %, donc à un résultat très faible.

b) l'autre a été placée dans une ampoule à décantation, épuisée par l'acide chlorhydrique à 3 %, et cet épuisement a été additionné d'acide silicotungstique. Le dosage, dans les conditions habituelles, a conduit à une pesée de 0,016 gr., nombre qui, multiplié par 0,4261, donne 0,0068, soit 0,10 gr. pour cent, résultat qui n'est pas négligeable et qui est très différent de celui que nous avons obtenu par évaporation directe de l'éther.

La substance que nous avons ainsi entraînée par les épuisements supplémentaires est donc un corps :

1° soluble dans l'éther lors de l'épuisement initial ;

2° difficilement soluble dans l'éther au moment de la purification. On peut imaginer qu'il a été solubilisé lors de l'épuisement initial à la faveur d'autres substances qui ne se retrouvent pas après la purification ou bien qu'il s'agit d'une substance, nouvelle mise en liberté au cours des manipulations (bases végétales ou autres) ;

3° précipitable par l'acide silicotungstique ;

4° volatil dans le vide.

Ce sont là tous les renseignements que cette expérience nous a donnés. Nous allons les grouper en un tableau et nous exposerons une autre série de résultats obtenus à partir d'une autre matière première, résultats qui vont confirmer ceux-ci et permettre d'éclairer un peu les points obscurs.

Poudre de Coca : Poudre I

Avant purification :

Solution éthérée

A) 1° Evaporation dans le vide (pour mémoire).	
2° Volumétrie sur le résidu précédent.....	0,798
3° Silicotungstate sur liqueur précédente neutralisée	0,790
B) Silicotungstate direct (sans évaporation dans le vide)	0,92
C) Codex belge (évaporation à douce température) ..	0,73
Silicotungstate sur le résidu de neutralisation....	0,74

Après purification :

D) Evaporation dans le vide et pesée Codex français..	0,67
Même technique, mais en utilisant une quantité d'éther plus grande, au moment de la purification.	
10 épuisements et évaporation (pesée).....	0,69
10 épuisements et précipitation directe sans évaporation (silicotungstate)	0,77
Reste dans l'eau (silicotungstate).....	0,13
E) Epuisement par ClH d'une autre partie de l'éther et épuisements par quantité d'éther fixée par le Codex, précipitation par l'acide silicotungstique (pas d'évaporation)	0,69

Voici une autre série de résultats obtenus à partir d'une autre poudre de Coca.

Nous avons, sur cette poudre, pratiqué les essais que nous venons d'exposer.

L'épuisement de 75 gr. de poudre dans les conditions que fixe le Codex conduit à une solution éthérée initiale sur laquelle seront pratiqués tous les dosages :

Tout d'abord, l'évaporation dans le vide d'une partie de cet éther (40 cc. = 5 gr. de poudre) et le dosage acidimétrique du résidu. Pour cela nous avons repris le résidu par 40 cc. d'éther employés en 3 fois et épuisés par 30 cc. d'acide sulfurique N/100.

Nous savons que 1 cc. d'acide sulfurique N/100 correspond à 0,00303 de cocaïne.

Il est donc facile de déduire de la quantité d'acide consommée la partie d'alcaloïde de la prise d'essai et de rapporter à 100 gr.

Résultat : 1,10 gr. %

La solution ainsi neutralisée a été additionnée de q. s. d'acide silicotungstique pour en assurer la précipitation complète. Le silicotungstate a été traité dans les conditions habituelles. Le résultat trouvé de : 1,08 %, donc sensiblement le même que volumétriquement, ce que nous avons déjà constaté.

Comme dans l'exemple précédent, nous avons, en supprimant l'évaporation, traité directement l'éther initial, par l'eau chlorhydrique et précipité les alcaloïdes de cette solution chlorhydrique par l'acide silicotungstique. Le silicotungstate traité dans les conditions habituelles conduit à un pourcentage d'alcaloïdes de 1,08, exactement le chiffre trouvé dans le paragraphe précédent. L'évaporation de l'éther dans le vide n'a donc rien changé au résultat.

Dans l'exemple précédent, nous avons observé une différence assez importante: 0,92 — 0,79, différence que l'on ne pouvait attribuer qu'à la disparition d'une substance volatile dans le vide sulfurique, substance qui est d'autre part précipitable par l'acide silicotungstique. Dans la poudre dont nous traitons ici, cette substance ne semble pas exister.

Poursuivant nos essais, suivant le plan adopté lors du premier examen, nous avons traité une partie de l'éther initial par un excès d'acide sulfurique N/100 selon les indications de la Pharmacopée belge et ceci après avoir évaporé cet éther initial à basse température et repris le résidu par quelques cc. d'éther. Les résultats trouvés dans cet essai ont été les suivants : 1,10 %, donc sensiblement le même chiffre que dans les essais précédents.

La conclusion qui s'impose dans le cas présent, c'est que, sans purification, les résultats sont constants, quelle que soit la méthode de dosage utilisée :

évaporation dans le vide et appréciation acidimétrique du résidu;
épuisement direct de l'éther initial, par une solution acide et ensuite précipitation silicotungstique (sans aucune évaporation) ;

évaporation à douce température et reprise par un excès d'acide titré ;

Le mode d'évaporation semble, ici, n'avoir aucune action.

Procédons à la purification.

Pour cela, sur une autre partie de la liqueur éthérée initiale, nous avons pratiqué le dosage Codex, c'est-à-dire que nous avons repris

par l'eau chlorhydrique à 0,50 % et que nous avons épuisé cette liqueur aqueuse par de l'éther en quantité rigoureusement fixée par le Codex. L'éther provenant des 5 épuisements prescrits a été évaporé dans le vide sulfurique et le résidu pesé :

Résultat : 0,77 %

Un dosage acidimétrique exécuté sur ce résidu a conduit à un résultat de 0,76 % et la précipitation, à l'état de silicotungstate, des alcaloïdes ainsi déterminés à un résultat voisin : 0,78 %.

La purification a donc éliminé une partie non négligeable des alcaloïdes, fait que GORIS avait signalé en essayant le procédé belge.

Procédant comme plus haut, nous avons constaté que le nombre d'épuisements par l'éther au moment de la reprise était insuffisant pour entraîner tout ce qui est précipitable par l'acide silicotungstique après passage en solution acide. Nous avons donc poursuivi les extractions jusqu'à épuisement complet vérifié par l'acide silicotungstique. Il nous a fallu faire 10 épuisements pour arriver à ce résultat.

L'évaporation de ces épuisement supplémentaires a conduit à un résultat de 0,83 %, donc à un chiffre un peu supérieur au précédent. La liqueur complètement épuisée précipite encore par l'acide silicotungstique. Le résultat de cette précipitation conduit à un pourcentage de 0,09.

L'étude de cette poudre est beaucoup plus simple que la précédente : tous les dosages faits sans purification donnent des résultats identiques.

Le mode d'évaporation ou, plus exactement, l'existence même de cette évaporation est sans action sur le résultat (cf. A°, B°, C°).

Tableau résumé de la poudre II

Solution éthérée :

Avant purification :

A) 1° Evaporation dans le vide.....	
2° Volumétrie sur le résidu précédent.....	1,10
3° Silicotungstate sur le liqueur précédente neutralisée	1,08
B) Silicotungstate direct sans évaporation dans le vide.	1,08
C) Pharmacopée belge	1,10

Après purification :

D) Evaporation dans le vide et pesée (Codex français).	0,77
Silicotungstate sur résidu	0,78
Même technique en utilisant une plus grande quantité d'éther au moment de la purification *:	
10 épuisements et évaporation dans le vide.....	0,83
Reste dans l'eau	0,09

La purification a donc éliminé :

$$1,08 - 0,78 = 0,30 \%$$

L'essai de comparaison entre les procédés des diverses Pharmacopées et le procédé silicotungstique nous a donc permis de faire un certain nombre de constatations et d'assister à la disparition de substance précipitable par l'acide silicotungstique et volatil dans le vide ; d'autre part, de trouver, après la purification, une substance devenue difficilement soluble au cours des manipulations, précipitable par l'acide silicotungstique et volatile dans le vide (tout au moins partiellement).

Extrait fluide de préparation récente

Nous allons étudier maintenant un extrait fluide, faire sur cet extrait la même série d'essais et examiner parallèlement les tableaux de résultats.

Nous avons eu à notre disposition un extrait fluide de Coca de préparation tout à fait récente, ce qui nous a permis d'étudier les transformations qu'il a subies au cours de la conservation.

Nous avons remarqué en exposant les procédés suivis par les diverses Pharmacopées, que la purification se faisait, au Codex, à l'état de chlorhydrate pour la poudre et à l'état de sulfate pour l'extrait fluide.

Nous nous sommes assurée que ceci n'avait aucune influence sur le résultat : il nous est en effet impossible de faire les dosages colorimétriques en milieu sulfurique, et nous voulions pouvoir utiliser la méthode colorimétrique si le besoin s'en présentait.

A cet effet, deux prises d'essai de 10 grammes d'un extrait fluide quelconque ont été traités par 25 cc. d'éther, 7,5 cc. d'eau et 3 cc. d'ammoniaque. Après une agitation de 2 minutes, l'éther a été décanté et la couche aqueuse épuisée à nouveau à 2 reprises par 20 cc. d'éther à chaque fois. Les liqueurs éthérées réunies ont été

épuisées dans un cas par l'acide sulfurique, dans l'autre par l'acide chlorhydrique. Les quantités d'acide utilisées ont été les suivantes :

5 cc. de solution normale	}	agitation de 2 minutes
9 cc. d'eau.		

puis deux autres épuisements avec :

1 cc. d'acide normal	}
9 cc. d'eau.	

les solutions acides réunies ont été épuisées par 20 cc. d'éther en milieu ammoniacal, en agitant 2 minutes. Cet épuisement a été suivi de 3 autres avec 15 cc. d'éther à chaque fois.

Les éthers réunis dans deux cristalloirs tarés ont été évaporés dans le vide jusqu'à poids constant.

La purification en milieu chlorhydrique donne un résultat de : 0,67 %.

La purification en milieu sulfurique donne un résultat de : 0,69 %.

On peut donc, comme il fallait s'y attendre, opérer la purification aussi bien en milieu chlorhydrique qu'en milieu sulfurique.

Nous avons fait sur l'extrait fluide de préparation récente les essais que nous avons faits sur les deux poudres précédentes.

La prise d'essai d'extrait fluide a été épuisée par l'éther dans les conditions prescrites par le Codex.

Les solutions éthérées réunies ont été épuisées par de l'acide chlorhydrique.

Sur la solution acide ainsi obtenue nous avons procédé à la purification en employant les quantités d'éther du Codex et nous nommons le résultat : Sc.

Nous avons procédé à une autre purification en prolongeant les reprises par l'éther, nous nommons le résultat : Sc'.

Nous avons d'autre part procédé à un autre épuisement initial, en utilisant les quantités de solvant et la technique de la Pharmacopée belge pour vérifier que la différence constatée entre les résultats de la Pharmacopée française et ceux de la Pharmacopée belge, ne provenait pas, en partie tout au moins, du mode d'épuisement initial.

Sur l'éther provenant de cet autre mode d'épuisement nous avons appliqué à la fois le procédé de dosage Codex français et celui de la Pharmacopée belge.

Nous avons pu constater, d'une part, que les résultats obtenus par le procédé français après un épuisement selon la technique belge et les résultats fournis en suivant d'un bout à l'autre la technique française étaient identiques, d'autre part, que les résultats obtenus à partir de l'éther initial traité par le procédé belge étaient notablement plus élevés.

Nous avons déjà vu que cette différence doit être attribuée à l'absence de purification.

Nous avons voulu voir quelle était l'influence du mode d'évaporation de l'éther sur le résultat et pour cela nous avons évaporé l'éther dans un cristalloir taré, évaporation que nous avons faite dans le vide. Nous avons pesé le résidu, puis nous l'avons apprécié acidimétriquement et enfin transformé en silicotungstate.

Sans aucune évaporation, nous avons épuisé l'éther initial par l'eau chlorhydrique et nous avons procédé à la précipitation silicotungstique. Nous avons ainsi pu constater l'influence de l'évaporation dans le vide.

Voici quel a été notre plan.

Voyons maintenant le détail des opérations et les résultats :

1° Epuisement par la technique du Codex français :

A) Dosage Codex et précipitation du résidu par l'acide silicotungstique.

B) Dosage Codex, mais en poursuivant les reprises par l'éther jusqu'à épuisement complet.

C) Précipitation silicotungstique du résidu d'évaporation de l'éther et précipitation silicotungstique de ce qui reste dans l'eau.

I. — A.) DOSAGE CODEX ET PRÉCIPITATION DU RÉSIDU PAR L'ACIDE SILICOTUNGSTIQUE.

Une prise d'essai de 50 gr. d'extrait fluide a été introduite dans une grande ampoule à décantation avec 125 cc. d'éther, 37 cc. 5 d'eau et 15 cc. d'ammoniaque officinale. Après agitation de 2 minutes et repos, l'éther a été séparé et remplacé par 100 nouveaux cc. d'éther. Ceci, deux fois de suite.

Les solutions éthérées réunies ont été épuisées par de l'acide chlorhydrique contenant 3 cc. de ClH officinal pour 100 cc. de solution.

L'éther dissous a été chassé dans le vide et le volume total amené à 100 cc. correspondant à 50 gr. d'extrait.

15 cc. de cette solution correspondant à 7 gr. 50 d'extrait ont été introduits dans une ampoule à décantation avec 20 cc. d'éther et 3 cc. d'ammoniaque. Après une agitation de 2 minutes, l'éther séparé a été remplacé par 3 fois 15 cc. d'éther. Ces différents éthers réunis ont été évaporés dans le vide et le résidu pesé.

Nous avons ainsi eu un résultat de 0 gr. 35 %, qui est le résultat obtenu conformément à la technique Codex.

Ce résidu a été dissous dans quelques cc. d'eau chlorhydrique à 3 % et la solution additionnée de 5 cc. de solution d'acide silicotungstique. Le précipité obtenu a été traité dans les conditions habituelles. Le résultat a été de : 0,36 %.

B) DOSAGE CODEX, MAIS EN POURSUIVANT LES REPRISES PAR L'ÉTHER JUSQU'À ÉPUISEMENT COMPLET.

15 cc. de solution, acide ont été traités comme dans le cas d'un dosage Codex, mais au lieu de borner à 4 les reprises par l'éther au moment de la purification, nous avons poursuivi jusqu'à ce que l'éther provenant de ces reprises ne cédât plus à l'eau chlorhydrique rien qui fut précipitable par l'acide silicotungstique.

Ce résultat a été obtenu au bout de 10 épuisements et à ce moment la liqueur aqueuse, complètement épuisée, est encore précipitable par l'acide silicotungstique.

Nous avons donc, d'une part, réuni les 10 épuisements par l'éther, nous les avons évaporé dans le vide et avons pesé le résidu ; d'autre part, nous avons précipité la liqueur aqueuse par l'acide silicotungstique, recueilli le précipité et déterminé ainsi quelle a été la part qui a échappée au dosage.

La pesée du résidu d'évaporation des 10 épuisements par l'éther a conduit au pourcentage suivant :

0 gr. 49

chiffre qui est notablement supérieur à celui que donne le Codex en se limitant à trois reprises par l'éther (0 gr. 35 %).

C) PRÉCIPITATION SILICOTUNGSTIQUE DU RÉSIDU D'ÉVAPORATION DE L'ÉTHER ET PRÉCIPITATION SILICOTUNGSTIQUE DE CE QUI RESTE DANS L'EAU.

Ce résidu a été dissous par quelques cc. d'eau chlorhydrique et additionné de 5 cc. de solution silicotungstique. Le silicotungstate,

traité dans les conditions habituelles, a conduit au résultat de 0,49, ce qui confirme le résultat précédent.

Quant à la liqueur, privée d'alcaloïdes par l'éther, nous l'avons acidulée par ClH et précipitée par l'acide silicotungstique. Résultat exprimé en cocaïne : 0 gr. 07, représentant une substance ne repassant pas dans l'éther au moment de la purification.

II. — ÉPUISEMENT PAR LA TECHNIQUE DE LA PHARMACOPÉE BELGE

Suivant notre plan, reproduit en tête de ce chapitre, nous avons procédé à un nouvel épuisement initial selon la technique belge.

75 gr. du même extrait fluide ont été introduits avec 750 gr. d'éther dans un grand flacon bouchant à l'émeri et le mélange a été agité vigoureusement. Nous avons ajouté 15 cc. d'ammoniaque à 17 % et laissé en contact pendant une heure, en agitant de temps en temps.

Nous avons décanté et filtré l'éther sur un filtre sec et couvert.

Nous avons alors réparti immédiatement 8 portions et 75 gr. d'éther dans 8 fioles.

1° Précipitation directe à l'état de silicotungstate.

Une des prises d'essai de 75 gr. a été placée dans une ampoule à décantation avec 10 cc. de ClH à 3 % et le mélange a été agité deux minutes. L'épuisement par l'eau chlorhydrique a été renouvelé 2 fois. L'éther dissous a été chassé dans le vide et la solution chlorhydrique additionnée d'acide silicotungstique.

Le silicotungstate a été recueilli dans les conditions habituelles et le calcul a conduit au pourcentage, exprimé en cocaïne, de 0,88, chiffre notablement plus élevé que tous ceux que nous avons rencontrés jusqu'à présent. Remarquons que ce résultat est atteint sans purification et aussi sans aucune évaporation de l'éther.

2° Titrage par le procédé belge.

Une autre prise de 75 gr. d'éther a été distillée et le résidu repris par de l'éther. Nous avons alors procédé à l'épuisement de l'éther par 50 cc. de solution sulfurique N/100. L'appréciation de l'excès d'acide nous a conduit au résultat de 0 gr. 60 %, chiffre qui est supérieur à celui que nous avons trouvé par le Codex français dans le premier essai.

Nous avons précipité par l'acide silicotungstique cette solution neutralisée, après l'avoir acidifiée convenablement par ClH. Cet essai nous a conduit au résultat de 0,62 %, donc au même résultat que volumétriquement.

Il nous faut maintenant nous assurer que dans l'éther obtenu par le mode d'épuisement initial belge, il est bien passé la même quantité d'alcaloïdes que dans l'épuisement français.

Pour cela, 75 gr. d'éther ont été traités par trois fois 10 cc. de ClH à 3 %, puis la solution chlorhydrique obtenue, traitée à nouveau par 20, puis trois fois 15 cc. d'éther. Ces éthers ont été réunis, évaporés dans le vide et le résidu pesé. Le pourcentage en cocaïne a été de 0 gr. 34. Nous avons trouvé 0 gr. 35 dans le premier cas, d'où nous pouvons conclure que le mode d'épuisement belge conduit exactement au même résultat que le mode d'épuisement français. C'est donc bien au manque de purification qu'il faut attribuer, en partie au moins, l'erreur par excès observée dans les dosages selon le procédé belge.

Nous avons enfin, tout simplement, évaporé dans le vide 75 gr. de l'éther initial et avons dissous le résidu de l'évaporation dans de l'eau chlorhydrique. La précipitation de cette solution, qui n'a subi aucune purification, par l'acide silicotungstique, a conduit au résultat de 0,65 %, chiffre très voisin de celui fourni par la Pharmacopée belge. Ces deux chiffres sont inférieurs au 0,88 trouvé par un épuisement direct, par l'eau chlorhydrique de l'éther initial, supprimant à la fois l'évaporation et la purification.

Nous pouvons conclure que la différence, $0,88 - 0,65 = 0,23$ est formée par une substance disparaissant par volatilisation dans le vide ou dans la distillation du procédé belge, substance qui est d'autre part précipitable par l'acide silicotungstique. Sa facile volatilisation fait penser aux hygrines.

Cette précision sur la nature de la substance qui trouble le dosage ne semble pas avoir été donnée par les auteurs qui ont jusqu'ici étudié la question.

Nous avons pu vérifier, sur les hygrines (*) que ces dernières sont précipitables par l'acide silicotungstique.

(*) Nous avons pu faire ces essais grâce à l'obligeance de M. le Professeur JANOT, qui a mis des hygrines à notre dispositions. Nous sommes heureuse de le remercier ici.

Restait à vérifier que la substance qui s'échappait au cours de l'évaporation dans le vide, était de nature alcaloïdique.

Pour cela, les évaporations d'éther dans le vide ont été faites en couvrant les cristallisoirs avec du papier filtre imprégné d'acide sulfurique N/10 : 1 cc. Ce papier, épuisé ensuite par l'eau cède quelque chose qui précipite par l'acide silicotungstique.

Nous avons pu également obtenir un précipité avec une solution de 2.4. dinitro-phénylhydrazine, préparée comme suit, d'après les indications de FERNANDEZ et SOCIAS et de M. MOUTON [38] :

2.4. dinitro-phénylhydrazine	1 gr.
Eau récemment distillée	90 cc.
SO ₄ H ₂ concentré	10 cc.

Nous avons mélangé la solution acide supposée contenir des hygrines avec un excès de réactif (15 cc.). Après un repos de 4 heures au cours duquel nous avons agité de temps en temps, nous avons pu observer un précipité.

Nous pensons qu'au cours de l'évaporation de l'éther, les hygrines disparaissent par volatilisation et ne se retrouvent pas dans les dosages du Codex ni dans ceux de la Pharmacopée belge.

Dans le cas de notre extrait fluide, nous pouvons évaluer les hygrines à : $0,88 - 0,65 = 0,23$ %.

La purification enlève $0,65 - 0,36 = 0,29$ d'une substance inconnue.

Extrait fluide de Coca

Solution éthérée initiale :

Avant purification :

1) Evaporation directe dans le vide et silicotungstate sur le résidu	0,65	0
2) Reprise de l'éther initial par ClH et précipitation par l'acide silicotungstique	0,88	0
3) Pharmacopée belge (évaporation à douce température)	0,60	0
Silicotungstate sur le résidu de neutralisation précédent	0,62	0

Après purification :

1) Evaporation et pesée (Codex)	0,35	0
Volumétrie sur le résidu	0,36	0

Silicotungstate sur le résidu de neutralisation précédent	0,36	0
2) Épuisement complet par l'éther au moment de la reprise (10 épuisements)		
Evaporation dans le vide et pesée	0,49	0
Précipitation par l'acide silicotungstique du résidu précédent	0,49	
Précipitation par l'acide silicotungstique de la solution aqueuse totalement épuisée par l'éther..	0,07	

Vieillessement de l'extrait

Deux mois et demi après cette étude, nous avons repris ce qui restait d'extrait et nous l'avons à nouveau titré.

Nous avons été obligée de limiter nos essais, n'ayant pas à notre disposition une quantité suffisante d'extrait.

Revenons à ce que nous avons pris l'habitude de nommer l'éther initial :

Nous en avons évaporé une partie dans le vide et nous avons évalué le résidu après l'avoir transformé en silicotungstate :

Résultat : 0,67 %

Le résultat du premier essai était de 0,65 %. Donc, aux erreurs d'expérience près le même chiffre.

Une autre partie de l'éther initial a été épuisée par l'eau chlorhydrique et la précipitation des alcaloïdes effectuée dans cette solution chlorhydrique au moyen de l'acide silicotungstique (sans évaporation ni purification).

Résultat : 0,68 % au lieu de 0,88 que nous avons trouvé dans le premier essai.

Dans ce cas il est donc disparu une notable proportion de principe précipitable par l'acide silicotungstique et, d'autre part, nous avons, cette fois, deux chiffres très voisins : 0,65 et 0,68 après avoir opéré une fois sans évaporation dans le vide et l'autre fois avec évaporation. Il semble donc que l'extrait ne contienne sensiblement plus d'hygrines.

C'est là un fait que nous avons déjà constaté à propos de la poudre II qui était très ancienne.

Nous avons alors procédé au dosage de l'extrait en suivant les prescriptions du Codex, avec les quantités d'éther prévues par le

Codex. Le résultat a été de 0,34 %, donc un chiffre sensiblement égal à celui trouvé deux mois plus tôt.

Nous avons ensuite procédé à l'épuisement complet de la solution aqueuse d'alcaloïdes avec une quantité d'éther supérieure à celle que fixe le Codex, c'est-à-dire en poursuivant les extractions. Lors de nos premiers essais, nous avons obtenu un épuisement complet de la solution aqueuse par 10 épuisements par l'éther. Cette fois le résultat s'est montré beaucoup plus difficile à atteindre et il nous a fallu multiplier les agitations. Enfin, quand l'épuisement a été terminé, nous avons évaporé l'éther et nous avons pesé le résidu. Nous avons trouvé, contre toute attente, un chiffre à peine supérieur au précédent résultant de 4 traitements seulement : 0,37.

Vraisemblablement, les principes que nous précipitions par l'acide silicotungstique en vérifiant que les épuisements n'étaient pas terminés ont été éliminés au cours de l'évaporation. Nous nous en sommes assurée en recommençant la même opération mais en groupant tous les éthers provenant des épuisements successifs et en les traitant par l'eau chlorhydrique. La solution chlorhydrique ainsi obtenue a été additionnée de Q. S. d'acide silicotungstique. Le précipité a été recueilli, lavé, séché, calciné et pesé dans les conditions habituelles :

Résultat : 0,45 % taux très nettement supérieur à celui que nous avons trouvé en évaporant l'éther. Les principes entraînés dans les épuisements sont donc en grande partie volatils dans le vide.

Nous n'avons rien constaté de semblable lors des essais effectués sur l'extrait frais. C'est donc là une influence du vieillissement.

Remarquons encore que cette partie entraînable par les épuisements supplémentaires était beaucoup plus importante dans les premiers essais.

Il nous reste à voir ce qu'est devenue la partie non entraînable par l'éther.

La précipitation par l'acide silicotungstique de la solution aqueuse restant après l'épuisement complet par l'éther conduit à un résultat de 0,17 = alors qu'il n'était que de 0,07 %.

En conclusion, il semble bien qu'au cours de la conservation l'extrait ait subi quelques changements de composition.

Remarquons tout d'abord, qu'en employant les quantités d'éther fixées par le Codex, nous avons trouvé le même titre en alcaloïdes dans les deux essais, pratiqués à deux mois de distance.

Existe-t-il, à côté de la cocaïne, une autre substance qui, puisqu'elle est plus abondante dans un extrait ancien proviendrait de son altération ?

Cette transformation a-t-elle lieu au cours du dosage ?

D'autre part nous avons assisté à la disparition des hygrines.

Il résulte de cette étude :

A) Qu'il y a concordance entre les dosages colorimétriques et les dosages gravimétriques par le silicotungstate.

B) Qu'il y a concordance entre les dosages gravimétriques par le silicotungstate et les dosages alcalimétriques, lorsqu'on a procédé à la purification.

C) Que les alcaloïdes présents dans la Coca semblent se répartir de la façon suivante au cours des épuisements :

L'épuisement initial enlève une quantité d'alcaloïdes qui, dosée sans purification correspond à un chiffre A ;

Après extraction par les quantités d'éther indiquées au Codex on ne retrouve qu'une quantité d'alcaloïdes A' inférieure à A ;

Les alcaloïdes correspondant à A-A' ne peuvent être extraits que partiellement par de nouveaux épuisements à l'aide de l'éther.

D) Que quelque soit le nombre des épuisements, une partie des alcaloïdes ne peut être enlevée et reste en solution dans le liquide aqueux où elle peut être mise en évidence et dosée par l'acide silicotungstique. Cette fraction d'alcaloïdes, dissoute par l'éther au cours de l'épuisement initial pourrait correspondre à des produits d'altération des alcaloïdes primitifs : ecgonine.

Elle s'est montrée plus abondante dans un extrait récemment préparé que dans le même extrait après deux mois et demi de conservation.

E) Que conformément à ce qu'a fait remarquer déjà GORIS, la purification des alcaloïdes est indispensable.

F) Que l'évaporation dans le vide des alcaloïdes purifiés est nécessaire : dans ces conditions, des principes à la fois basiques et précipitables par l'acide silicotungstique sont éliminés ? Le fait avait été constaté sans qu'on ait précisé, nous semble-t-il, la nature de ces substances ?

Nous avons pu montrer qu'elles sont constituées par des hygrines dont elles donnent les hydrazones.

G) Au point de vue pratique, nous pensons qu'il y a lieu de conserver la méthode du Codex en poursuivant toutefois les épuisements étherés.

BELLADONE

Nous venons de voir pour la Coca que seules les différentes modalités d'extraction et de purification influent sur le chiffre trouvé. Ces conditions restant constantes, les différentes techniques de dosage proprement dites : gravimétrique, volumétrique, silicotungstique (pondérale ou colorimétrique) conduisent à des chiffres tout à fait comparables.

L'étude de la Belladone et de ses préparations montre au contraire que, en plus des modalités d'extraction et de purification, les techniques de dosage influent sur les résultats.

JAVILLIER [25] avait d'ailleurs abordé ce problème et montré, dès 1910 qu'une grande partie (de 12 à 15 % selon les cas) des alcaloïdes dosés par le procédé Codex et exprimés en atropine échappe à la précipitation par l'acide silicotungstique.

Poursuivant l'application de notre plan de travail, nous avons comparé la méthode de dosage du Codex aux méthodes faisant appel à l'acide silicotungstique à propos de poudres et de préparations galéniques de Belladone.

A.) Dosage Codex et précipitation par l'acide silicotungstique de la liqueur obtenue en fin de dosage.

Le résultat obtenu par le silicotungstate est notablement inférieur à celui trouvé par volumétrie. Peut-être ne représente-t-il que les alcaloïdes fixes ? d'où la nécessité d'essayer un déplacement par l'ammoniaque qui permet, en évaporant à sec, de chasser les alcaloïdes volatils et dans ces conditions de comparer les résultats d'un dosage volumétrique et d'un dosage par l'acide silicotungstique. Dans ce cas encore, les résultats diffèrent et les silicotungstates conduisent à des résultats notablement inférieurs.

Voici quelques détails techniques et les résultats obtenus.

Prenons le cas d'une teinture de Belladone concentrée que nous avons pu étudier à deux reprises : une première fois, peu après sa préparation et ensuite plusieurs mois après.

1) Peu de temps après sa préparation.

Nous avons pratiqué deux dosages simultanément, dans les conditions suivantes :

25 gr. de teinture ont été placés dans une ampoule à décantation avec 100 cc. d'éther-chloroforme (éther 50 gr., chloroforme 25 gr.) et 10 cc. de carbonate de sodium à 20 %.

Après agitation convenable, l'éther a été décanté et filtré sur sulfate de sodium sec.

Nous avons procédé à un deuxième épuisement avec 50 cc. d'éther-chloroforme puis à un troisième semblable.

Les différents éthers réunis ont été amenés au volume final de 250 cc. correspondant à 25 gr. de teinture. Une partie de cet éther a été traité dans les conditions prescrites par le Codex, puis la liqueur finale neutralisée, a été précipitée par l'acide silicotungstique après acidification convenable.

Une autre partie de cet éther a été épuisée par l'eau chlorhydrique puis précipitée directement par l'acide silicotungstique sans neutralisation préalable.

A) Dosage selon la technique Codex.

125 cc. de l'éther-chloroforme ci-dessus correspondant à 12,50 gr. de teinture concentrée ont été placés dans une ampoule à décantation soigneusement lavée à l'eau distillée neutralisée (toute la verrerie devant servir à ces dosages volumétriques qui s'effectuent au moyen de solutions titrées très diluées doit être rigoureusement neutre : ampoule, fioles, entonnoirs, filtres...).

Nous avons procédé à l'épuisement des solutions par 50 cc. d'acide sulfurique N/100 et nous avons titré l'excès d'acide par une solution de soude N/100.

Nous avons consommé 45,11 cc. d'acide ce qui correspond à : $0,0289 \times 45,11 = 0,130$ gr. d'atropine dans 12,50 gr. de teinture concentrée, ce qui conduit à un pourcentage de 1,04.

La liqueur ainsi neutralisée a été amenée à un volume total de 125 cc. en ménageant une acidité de 2 % en ClH. Nous avons au préalable chassé l'éther dissous en abandonnant la solution dans le vide.

125 cc. de la solution acide correspondent à 12,50 gr. de poudre. Nous avons mis de côté 25 cc. de cette solution en vue de dosage colorimétrique et nous avons additionné les 100 autres cc. correspondant à 10 gr. de teinture de 5 cc. d'acide silicotungstique.

Le silicotungstate traité dans les conditions habituelles nous a conduit à un résidu de calcination de 0,0746 gr., soit en atropine

$$0,4064 \times 0,0746 \times 10 = 0,303 \%$$

Note : Un certain nombre d'essais ont été faits avec M. LOISEAU.

En vue du *dosage colorimétrique* nous avons opéré sur les 25 cc. mis de côté :

10 cc. correspondant à 1 gr. de teinture ont été additionnés de 2 cc. d'acide silicotungstique et traités dans les conditions habituelles. La liqueur surnageante et les eaux de lavage ont été amenées au volume total de 20 cc. et les lectures colorimétriques faites comme toujours après addition de 1/10 de solution de chlorure titaneux : les résultats ont été les suivants (cuves de 2,5 mm.) :

	Lectures	Silicotungstate
Témoin	0,806	0,483 gr.
Essai	0,747	0,445 gr.
$0,483 - 0,445 = 0,038 \text{ gr.}$		

Dans 20 cc. il y a 0,038 gr. : 5 = 0,0076 gr. et en transformant en atropine : $0,0076 \times 0,4064 = 0,003088$, soit % 0,308.

B) Dosage par l'acide silicotungstique après simple épuisement de l'éther-chloroforme par l'acide chlorhydrique.

L'autre partie de l'éther : 125 cc. correspondant à 12,50 gr. de teinture a été épuisée directement par l'eau chlorhydrique à 2 % et cette solution acide précipitée par l'acide silicotungstique comme précédemment.

Résultat pondéral 0,33 %

Résultat colorimétrique 0,30 %

donc le même résultat que dans le cas de la précipitation par l'acide silicotungstique de la solution neutralisée. Remarquons que ce résultat est très inférieur au résultat donné par la méthode du Codex : 0,030 au lieu de 1,04 %.

2.) Plusieurs mois après :

Plusieurs mois après, nous avons repris cette teinture et avons pratiqué les mêmes dosages, mais nous avons voulu voir, de plus, si la différence entre les dosages volumétriques et les silicotungstates ne provenait pas du fait que l'acide silicotungstique ne précipite que les alcaloïdes fixes.

Pour cela nous avons déplacé les alcaloïdes d'une prise d'essai de teinture par l'ammoniaque, et ceux d'une autre prise d'essai par le carbonate de sodium.

D'une part, 25 gr. de teinture ont été traités par l'ammoniaque ; d'autre part, 25 gr. de teinture ont été traités par le carbonate de sodium.

Chaque prise d'essai a été épuisée par 100, puis 2 fois 50 cc. du mélange éthéro-chloroformique. Les différents liquides d'épuisement

correspondant au même dosage ont été filtrés sur sulfate de soude et amenés au volume total de 250 cc. correspondant à 25 gr. de teinture.

a) Déplacement par le carbonate de sodium.

125 cc. d'éther correspondant à 12,50 gr. de teinture ont été épuisés par 50 cc. de solution N/100 d'acide avec toutes les précautions indispensables, comme nous l'avons dit plus haut.

Nous avons utilisé 39,6 cc. d'acide, ce qui correspond à :

$0,00289 \times 39,6 = 0,114$ gr. d'atropine dans 12,5 de teinture soit un pourcentage de 0,91.

La liqueur ainsi neutralisée a été privée de l'éther qu'elle tenait en dissolution par l'action du vide et additionnée de 5 cc. de solution d'acide silicotungstique à 5 %, ceci après avoir ramené l'acidité à une teneur en ClH de 2 %.

La calcination du silicotungstate nous a conduit à une pesée de 0,0786 gr., ce qui correspond à $0,4064 \text{ gr.} \times 0,0786 = 0,0519$ gr. d'atropine dans 12,50 gr. de teinture, soit un pourcentage de 0,255, chiffre qui est toujours notablement inférieur au précédent comme nous l'avions déjà constaté.

Les 25 cc. d'éther restant ont été épuisés directement par l'acide chlorhydrique à 2% et cette solution précipitée par l'acide silicotungstique.

La pesée du résidu de calcination du silicotungstate a été de 0,0828 gr., ce qui correspond à $0,4064 \times 0,0828 = 0,0336$ dans 12,50 gr. de teinture et à un pourcentage de 0,26 ;

b) Déplacement par l'ammoniaque :

La même expérience a été faite en déplaçant les alcaloïdes par l'ammoniaque.

25 gr. de teinture ont été mis dans une ampoule à décantation avec 5 cc. d'ammoniaque et 100 cc. d'un mélange éthéro-chloroformique. Après agitation convenable, le solvant a été décanté et remplacé par deux fois 50 cc. d'éther-chloroforme. Ces différents liquides d'épuisement ont été réunis, filtrés sur sulfate de soude et divisés en deux parties égales qu'on a évaporées et séchées à l'étuve à 105°.

L'un des résidus d'évaporation dissous dans quelques cc. d'alcool a été évalué acidimétriquement en utilisant 13 cc. 35 d'acide N/100, ce qui correspond en atropine à $0 \text{ gr. } 00289 \times 13,35 = 0,03858$ pour 12 gr. 50 de teinture, soit un pourcentage de 0,30.

La liqueur ainsi neutralisée ramenée à une acidité de 2 % en ClH a été additionnée de 5 cc. de la solution d'acide silicotungstique

et le silicotungstate recueilli dans les conditions habituelles a conduit à un résultat de 0,16 %.

L'autre résidu d'évaporation repris directement par l'eau chlorhydrique à 2 %, a été également précipité par l'acide silicotungstique. Le résultat a été de 0,17 %.

Si nous groupons ces divers résultats, nous pouvons dresser le tableau suivant :

Poudre de Belladone

	Au moment de la préparation	Plusieurs mois après
A.) Codex	1,04 %	0,91 %
B.) Précipitation silicotungstique du résidu	0,303 %	0,255 %
Colorimétrie	0,308 %	
C.) Epuisement direct par ClH et précipitation par l'acide silicotungstique	0,33 %	0,26 %
Colorimétrie	0,30 %	
D.) Déplacement par l'ammoniaque :		
1.) Volumétrie		0,30
2.) Précipitation de la liqueur précédente par l'acide silicotungstique		0,16
3.) Epuisement direct par ClH et précipita- tion		0,17

L'examen de ces chiffres montre que :

1° La précipitation par l'acide silicotungstique des alcaloïdes précédemment isolés conduit à un résultat très inférieur au résultat volumétrique : 0 gr. 30 au lieu de 1 gr. 04, dans le cas du déplacement par le carbonate de sodium ;

2° Dans le cas du déplacement par l'ammoniaque, les résultats volumétriques et silicotungstiques, bien que plus comparables, ne sont pas encore identiques.

Voici les résultats de la même expérience faite sur une poudre de Belladone dont 120 gr. ont été traités par l'éther chloroforme en présence de carbonate de sodium.

L'éther-chloroforme séparé a été épuisé par l'eau chlorhydrique et cette solution chlorhydrique à nouveau traitée par l'éther-chloroforme en deux fois : une partie de la solution étant additionnée de carbonate de sodium et une autre d'ammoniaque.

Les dosages ont été continués selon la technique habituelle : reprise par un excès de solution acide titrée et neutralisation de cet excès.

Résultat :

Déplacement par le carbonate de sodium.....	0 gr. 39 %
Déplacement par l'ammoniaque.....	0 gr. 31 %

Chacune des solutions neutres ainsi obtenues a été additionnée d'un excès d'acide silicotungstique après que l'acidité ait été ramenée à 2 % en ClH.

Résultat en atropine % :

Silicotungstate sur le résidu de déplacement par le carbonate de sodium	0 gr. 25 %
Silicotungstate sur le résidu de déplacement par l'ammoniaque	0 gr. 18 %

Voici maintenant le cas d'un *extrait de Belladone* :

Nous avons préparé une solution alcoolique d'extrait telle que 5 cc. = 1 gr. d'extrait et nous avons opéré le déplacement des alcaloïdes de 20 cc. de solution correspondant à 4 gr. d'extrait, d'une part au moyen de 10 cc. de carbonate de sodium à 25 % et, d'autre part, au moyen de 5 cc. d'ammoniaque.

L'épuisement a été réalisé au moyen de 100 cc. de mélange éthéro-chloroformique.

Le dosage volumétrique a été fait en reprenant 50 cc. de cet éther-chloroforme par un excès connu d'acide titré, et le dosage colorimétrique pratiqué sur 20 cc. d'éther-chloroforme correspond à 0 gr. 80 qu'on évapore et reprend ensuite, par 10 cc. de ClH à 2 % puis précipité par 2 cc. de solution d'acide silicotungstique.

D'autre part, les résidus des dosages volumétriques ont été privés d'éther par action du vide, ramenés à une teneur en ClH de 2 % et précipités par l'acide silicotungstique.

Résultats :

— Volumétrie	Déplacement par le carbonate de sodium.	3,71 %
	Déplacement par l'ammoniaque.....	2,99 %
— Colorimétrie	Déplacement par le carbonate de sodium.	3,25 %
	Déplacement par l'ammoniaque	3,23 %

— Gravimétrie	Déplacement par le carbonate de sodium.	2,61 %
	Déplacement par l'ammoniaque	2,73 %

Résultats de l'examen d'un autre extrait de Belladone :

Dosage Codex 4,41 %

Silicotungstate :

Par pesée 2,88 %

Colorimétrie 3,14 %

Il y a dans ce manque d'accord entre les diverses techniques de dosage, quelque chose d'inexpliqué, que, faute de temps, nous réservons à d'autres études.

CONCLUSIONS GENERALES

Depuis la première application qu'en a faite G. BERTRAND, on a très fréquemment utilisé pour doser les alcaloïdes, leur précipitation à l'état de silicotungstate suivie du lavage, de la dessiccation et de la calcination du précipité.

Le poids du résidu de calcination multiplié par un coefficient convenable permet de calculer le poids d'alcaloïde précipité.

Nous avons d'abord rappelé l'historique de la méthode, les applications qui en ont été faites, puis dans la première partie nous avons discuté de façon détaillée la technique de dosage. Nous nous sommes attachée à la discussion du coefficient employé qui, dans la pratique, ne correspond pas toujours exactement à celui que l'on peut déduire de la formule de BERTRAND : SiO_2 , 12 WO_3 , 4 alcaloïdes.

Par exemple :

— Caféine..... SiO_2 , 12 WO_3 , 3 caféine.

— Strychnine.. 2 SiO_2 , 24 WO_3 , 7 strychnine.

— Lobéline.... 2 SiO_2 , 24 WO_3 , 7 lobéline.

— Aconitine... 2 SiO_2 , 24 WO_3 , 7 aconitine.

Nous n'avons qu'esquissé l'interprétation possible de ces faits, dont l'étude a été reprise d'autre part par VALLÉRY [50], utilisant dans nos recherches les coefficients expérimentaux vérifiés.

Nous avons à ce propos vérifié nous-même la composition des précipités.

Exemple :

Cocaïne, quinine, caféine, hydrastine, strychnine.

Les méthodes volumétriques proposées par divers auteurs n'ont pas retenu notre attention.

Nous avons par contre comparé les résultats donnés par deux méthodes colorimétriques aux résultats donnés par la méthode classique de G. BERTRAND.

La première méthode proposée est celle de ROJAHN et SEIFERT dont le principe est le suivant : Précipitation de l'alcaloïde à l'état de silicotungstate en milieu chlorhydrique, isolement du précipité, décomposition du précipité par l'ammoniaque ; l'alcaloïde précipité par l'ammoniaque est dissous par un solvant convenable et, dans la liqueur ainsi privée d'alcaloïdes, les auteurs dosent l'acide silicotungstique par réduction par le chlorure titaneux qui donne dans ces conditions une coloration appréciable au colorimètre.

Elle ne nous a pas donné de résultats satisfaisants. Nous n'avons pu obtenir de résultats convenables qu'en substituant à l'ammoniaque le silicate de potassium pour décomposer le précipité de silicotungstate d'alcaloïde. Même avec cette amélioration, le procédé ne nous paraît pas devoir être retenu car il est plus laborieux que le suivant, procédé de MASCRÉ et de LOISEAU dont voici le principe :

Précipitation de l'alcaloïde en milieu chlorhydrique par l'acide silicotungstique en excès connu et dosage de cet excès après séparation du précipité par la réaction colorimétrique qu'utilisaient ROJAHN et SEIFERT. Nos expériences ont montré qu'au dosage des silicotungstates par la technique ROJAHN et SEIFERT, il est préférable de substituer le dosage *de l'excès* de l'acide silicotungstique par la méthode MASCRÉ-LOISEAU.

En ce qui concerne cette dernière, nous avons vu qu'elle donne toujours un accord satisfaisant avec la méthode pondérale. Les coefficients expérimentaux à utiliser étant parfois un peu différents.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons, pour un certain nombre de drogues et de préparations galéniques, comparé soit simplement les méthodes silicotungstique, colorimétrique et pondérale, et nous avons obtenu dans tous les cas les mêmes résultats ; dans d'autres cas, nous avons comparé les méthodes silicotungstique, gravimétrique ou colorimétrique aux méthodes officinales, basées sur des techniques différentes.

Exemples :

- *Kola* : Accord entre dosages silicotungstique, colorimétrique et pondéraux, accord pratique entre les dosages silicotungstique et Codex, mais le dosage de la caféine par l'acide silicotungstique est beaucoup plus long que le dosage Codex ; il présente une réelle difficulté étant donné le peu de netteté qui marque la fin du lavage du silicotungstate.

- *Hydrastis* : Concordance entre dosages silicotungstiques et Codex.
Les dosages silicotungstiques sont plus longs que les dosages Codex et ne présentent par conséquent pas d'avantages. A notre connaissance, l'acide silicotungstique n'avait jamais été utilisé pour le dosage de l'*Hydrastis*.
- *Quinquina* : Accord complet entre dosages silicotungstiques et dosages Codex. La précision obtenue au moyen du silicotungstate est plus grande que celle obtenue au moyen du dosage volumétrique.
- *Coca* : L'emploi de l'acide silicotungstique nous a permis d'approfondir la répartition et le comportement de divers principes au cours du dosage de la Coca.

Il résulte de notre étude de la Coca que :

A) Il y a concordance entre les dosages colorimétriques et les dosages gravimétriques par le silicotungstate.

B) Il y a concordance entre les dosages gravimétriques par le silicotungstate et les dosages alcalimétriques, lorsqu'on a procédé à la purification.

C) Les alcaloïdes présents dans la Coca semblent se répartir de la façon suivante au cours des épuisements :

L'épuisement initial enlève une quantité d'alcaloïde qui, dosé sans purification, correspond à un chiffre A.

Après extraction par les quantités d'éther indiquées au Codex, on ne retrouve qu'une quantité d'alcaloïdes A' inférieure à A. Les alcaloïdes correspondants à A-A' ne peuvent être extraits que partiellement par de nouveaux épuisements à l'aide de l'éther.

D) Quel que soit le nombre de ces épuisements, une partie des alcaloïdes ne peut être enlevée et reste en solution dans le liquide aqueux où elle peut être mise en évidence et dosée par l'acide silicotungstique. Cette fraction d'alcaloïde dissoute par l'éther au cours de l'épuisement initial pourrait correspondre à des produits d'altération des alcaloïdes primitifs : Ecgonine.

Elle s'est montrée plus abondante dans un extrait récemment préparé que dans le même extrait après deux mois et demi de conservation.

E) Conformément à ce qu'a déjà fait remarquer GORIS, la purification des alcaloïdes est indispensable.

F) L'évaporation dans le vide des alcaloïdes purifiés est nécessaire : dans ces conditions, des principes à la fois basiques et précipitables par l'acide silicotungstique sont éliminés. Le fait avait été constaté sans qu'on ait précisé, nous semble-t-il, la nature de ces substances. Nous avons pu montrer qu'elles sont constituées par des hygrines dont elles donnent des réactions.

G) Au point de vue pratique, nous estimons qu'il y a lieu de conserver la méthode du Codex en poursuivant toutefois les épauissements étherés.

Nous pensons, par ce travail, avoir apporté une contribution utile au dosage des alcaloïdes dans les drogues et les préparations galéniques.

Vu : *Le Président de thèse,*

M. MASCRÉ.

Paris, le 20 Octobre 1943.

Vu : *Le Doyen,*

A. DAMIENS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Gilbert GIDEL.

BIBLIOGRAPHIE

1. AZADIAN (A.). Dosage des alcaloïdes. Application aux préparations de Noix vomique. *Journ. suisse Chim. et Pharm.*, 1913, 51, p. 761-765.
2. BAGGESGAARD RASMUSSEN (H.). Ueber die Bestimmung des Nikotins in Tabak und Tabakextrakten. *Zeitsch. f. anal. Chem.*, 1916, 55, p. 81, 133.
3. BERREDO CARNEIRO (P. DE). Les principes actifs du curare. *C. R. Ac. Sc.*, 1938, 206, p. 1202-1204.
4. BERTRAND (G.). L'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes. *C. R. Ac. Sc.* 1899, 128, p. 742-745. *Bull. Soc. Chim.* 1899 (3), 21, p. 434-439.
5. BERTRAND (G.) et JAVILLIER (M.). Sur le silicotungstate de nicotine et sur le dosage de cet alcaloïde. *Bull. Sc. pharmacol.* 1909, 16, p. 7-14.
6. BLANCHER (A.). Séparation quantitative de la brucine et de la strychnine. *Thèse Doct. Pharm.* Paris, 1903.
7. BONN (A.) et DESGREZ (Ch.). Dosage de la caféïne dans le café boisson et les extraits de café. *Ann. des Falsif. et Fraudes*, 1931, 24, p. 546.
8. CHAPIN. U. S. Departm. of Agric., Bureau of Chem. Industry., *Bull.* 133, 1911.
9. COPAUX. La préparation des acides silicotungstiques. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1908 (4), 3, p. 101-109.
10. DE JONG. Recherches sur la feuille de coca de Java, et ses alcaloïdes. *Recueil Trav. chim. Pays-Bas*, 1923, (4), 4, 980-999.
- 10 bis. DUBREUIL (R.). Dosage des alcaloïdes totaux dans les écorces de quinquina. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1928, 35, p. 635-642.
11. DUJARDIN. Contribution à l'étude du dosage de la strychnine et de la brucine dans l'extrait de noix vomique. *Th. Doct. Pharm.* Lille. 1924, p. 36-37.
12. ECALLE (H.). Dosage de l'aconitine dans les préparations à base d'aconit. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1901, (6), 14, p. 97-102 et *Thèse Doct. Pharm. Univ. Paris.* 1902.
13. ESPIL (L.) et GENEVOIS (L.). Microdosage de la vitamine C. *Bull. Sac. Chim. Fr.* 1938 (5° s.), 5, p. 1532-1535.

14. FERENCZ (A.) et DAVID (L.). Neus Siliciowolframsäure, - Methode zur quantitativen Bestimmung der Alkaloïde. *Pharmazeutische Post*, 1914, 47, 559-563.
15. GODEFFROY (R.). Die anwendung der silicoduodeciwolframsaeure als Reagenz auf Alkaloïde. *Ber. d. chem. ges.* 1876, '9, p. 1792-1793.
16. GORIS (A.) et CHALMETA (A.). Etude critique des méthodes de dosage des alcaloïdes dans les feuilles de coca. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1932, 39, p. 69-75.
17. GORIS (A.) et MÉTIN (M.). Variations de la teneur en alcaloïdes des racines d'aconit. *Bull. Sc. pharmacol.* 1924, 31, p. 330-335.
18. GORIS (A.) et LIOT (A.). Sur une méthode d'appréciation 'de la valeur thérapeutique de l'extrait d'ergot de seigle. *Bull. Sc. pharmacol.* 1924, 31, p. 379-390.
19. GUILLAUME (A.). Sur les silicotungstates de pilocarpine, de pseudo-pelletiérine et le dosage de ces alcaloïdes. *Bull. Sc. pharmacol.* 1927, 34, p. 151-155.
20. GUILLEMARD (H.). Sur l'emploi de l'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes de l'urine. *C. R. Ac. Sc.*, 1901, 132, 1438-1442.
21. HEIDUSCHKA (A.) et WOLF (L.). Beiträge zur Kenntniss des Verhaltens von Silico- und Phosphorwolframsäure gegen Alkaloïde. *Schw. Apoth. Zeitg.* 1920, 58, p. 213 à 218 et 229 à 233.
- 21 bis. HIRT. Standardisation chimique des préparations galéniques à base de genét. *Th. Doct. Univ.* (Pharm.). Strasbourg, 1929.
22. JANOT (M.-M.) et FAUDEMAY (P.). Silicotungstate cristallisé d'hordénine. Dosage de l'hordénine. *Bull. Sc. pharmacol.* 1932, 39, p. 288-293.
23. JANOT (M.-M.). et BERNIER (Mlle M.). Essai de localisation des alcaloïdes dans le Peyotl. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1933, 40, p. 145-153.
24. JAVILLIER (M.). Sur les silicotungstates de conicine, de spartéine et d'atropine. *Bull. Sc. pharmacol.* 1910, 17, p. 315-320.
25. JAVILLIER (M.). Dosage de l'atropine. Titrage des alcaloïdes dans les extraits de Belladone. *Bull. Sc. pharmacol.* 1910, 17, p. 629-634.
- 25 bis. JAVILLIER (M.) et GUERITHAULT. Le dosage des alcaloïdes du quinquina et le silicotungstate de quinine. *Bull. Sc. pharmac.*, 1911, 18, p. 93.
- 25 ter. JAVILLIER (M.). Sur les combinaisons de l'acide silicotungstique avec l'antipyrine et le pyramidon. *Bull. Sc. pharmacol.* 1912, 19, p. 70.

26. JENSEN (H. R.). The alkaloid silicotungstates and their uses. *Pharm. Journ.*, 1913, (4° s.), 36, p. 658-660.
27. KAHANE (M. et Mme E.). Recherches sur les phospho et les silicotungstates. *Bull. Soc. chim. Fr.*, (4), 1931, 49, p. 557-567.
28. KELLER (C.). Mitteilungen über die Wertbestimmung von Drogen. *Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm.*, 1895, 33, p. 453.
29. KLJATSCHKINA (B.) et STRUGADSKI (M.). Die Bestimmung des Brinzins als Silikowolframat und zur Analyse von Samen Strychni. *Arch. der Pharm.*, 1929, 267, p. 177-192.
30. KRAUSS (J.). Die Bestimmung von Strychnin in Strychningetreide. *Zeits. f. angew. chemie*, 1931, 44, p. 946-947.
31. LEFEBVRE (J.). Etude historique et critique des principaux réactifs généraux et de quelques réactions particulières d'alcaloïdes. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1912.
32. LEROY (P.). Recherches sur la précipitation de l'urine par l'acide silicotungstique. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Toulouse, 1931.
33. MALMANCHE (Mme A.). Dosages chimiques et physiologiques des préparations d'Aconit. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1929.
34. MARIGNAC. Recherches chimiques et cristallographiques sur les tungstates, les fluotungstates et les silicotungstates. *Ann. de C. et P.* 1863 (3° s.), 69, p. 5 à 86.
35. MACH (F.) et SINDLINGER (F.). Versuche zur Bestimmung des Pyridins mit Kieselwolframsäure, insbesondere bei Gegenwart von Nicotin. *Zeitschrift für angewandte Chemie*, 1924, 37, p. 89-92.
36. MASCRÉ (M.). Sur le dosage des alcaloïdes de la Lobélie. *Bull. Sc. pharmacol.* 1930, 37, p. 209-219.
37. MASCRÉ (M.) et LOISEAU (J.). Dosage des alcaloïdes par précipitation silicotungstique et colorimétrie. *Bull. Sc. pharmacol.* 1941, 48, p. 273-280.
- 37 bis. MONNET (R.). Le dosage des alcaloïdes du quinquina. *Thèse Dipl. sup. (Pharm.)*, Alger 1936.
38. MONTANT (F.). Contribution à l'étude de l'extraction et du dosage chimique des alc. totaux du Veratrum album. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Lyon 1943.
- 38 bis. MOUTON (M.). Application de la 2-4. dinitrophenylhydrazine à l'essai de quelques préparations galéniques. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris 1938.
39. NORTH (E. O.) et BEAL (G. D.). The preparation, properties and uses of silicododecatungstic acid I. The preparation of the acid and its salts. *Journal of amer. pharm. Assoc.* 1924, 13, p. 889-898.

40. NORTH (E.-O.) et BEAL (G.-D.). The use of the acid as a volumetric reagent for alkaloids. *Journ. of amer. pharm. Assoc.*, 1924, 13, p. 1001-1008.
- 40 bis. PARIS (R.). Nouvelles recherches sur le « séoulou ». *Holarrhena africana* A. D. C. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1942, 49, p. 33-40.
41. PEYER (W.) et GSTIRNER (F.). Die Bestimmung der Lobelia-Alkaloide. *Arch. der Pharm.*, 1932, 270, p. 44-48.
- 41 bis. PLOYART. Sur le dosage des alcaloïdes dans les préparations officinales du quinquina. *Th. Doct. Univ. (Pharm.)*. Lille 1912.
- 41 ter. POLONOVSKI (M.) et CAPPELAERE. Silicot. et iodomercures de genalcaloïdes. Application au dosage de ces bases. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1931, (8^e s.), 14, p. 328-337.
42. RIBAUT (H.). Sur le dosage de l'aconitine par l'acide silicotungstique. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1910, 17, p. 634-639.
43. ROJAHN (C.-A.) et SEIFERT (R.). Neue Methoden zur kolorimetrischen Alkaloidbestimmung. *Arch. der Pharm.*, 1930, 268, p. 499-520.
- Echinocactus Williamsii Lem. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*.
Echinocactus Williamsii. Lem. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*.
Paris 1936.
45. STUBER (E.) et KLJATSCHKINA (B.). Die quantitative Bestimmung des Strychnins als Silicowolframat. *Arch. der Pharm.*, 1928, 266, p. 33-38.
46. TAIGNER (E.). Ueber die Verwendung von Kieselwolframsäure zur quantitativen Alkaloidbestimmung. *Zeitschr f. anal. Chem.*, 1919, 58, p. 346-352.
47. TANRET (G.). Sur la galégine, alcaloïde retiré du galega officinalis. *Bull. Soc. chim.*, 1914, 4^e s., 15, p. 613-625.
48. VALETTE (G.). Dosage de la cocaïne à l'état de silicotungstate. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1931, 38, p. 688-691.
49. VALETTE (G.). De l'emploi de l'acide silicotungstique pour la caractérisation et le dosage de la novocaïne. *Bull. Sc. pharmacol.* 1933, 40, p. 28-33.
50. VALLERY (L.). Sur le dosage de l'atropine et de l'hyosciamine à l'état de silicotungstates. *C. R. Ac. Sc.*, 1942, 214, p. 171-173.
51. WYROUBOFF. Recherches sur les silicotungstates. *Bull. Soc. de minéralogie*, 1896, 19, p. 219.
52. YVON (P.). Etude sur le vin de quinquina. *Journ. Pharm. et Chim.* 1902, (6^e s.), 16, p. 151-155 et 198-207.
-

